Aus dem Pharmakologischen Institut der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med. Hans Herken

Der Einfluß geringer Dosen von Phenobarbital, Tolbutamid, Methenolon und Prednisolon auf die Vermehrung des endoplasmatischen Retikulums in der Leber

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

Rüdiger Reichert

aus Schwerin

1965

8593

Druck:
ERNST-REUTER-GESELLSCHAFT
der Förderer und Freunde der Freien Universität Berlin e.V.
DISSERTATIONS-DRUCKSTELLE
1 Berlin 33, Garystr. 45

Aus dem Pharmakologischen Institut der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med. Hans Herken

Der Einfluß geringer Dosen von Phenobarbital, Tolbutamid, Methenolon und Prednisolon auf die Vermehrung des endoplasmatischen Retikulums in der Leber

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

Rüdiger Reichert

aus Schwerin

Dekan : Prof. Dr. med. W. Schneider

Referent : Prof. Dr. med. H. Remmer

Korreferent : Prof. Dr. med. F. Lembeck

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät

der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I Einleitung	5
II Methodik	
1. Bestimmung der Narkosedauer	8
2. Bestimmung der Lebermikrosomenbestandteile	9
3. Aktivitätsbestimmung der Procain spaltenden Esterase	11
4. Auftrennung der Phosphatbestandteile der Lebermikrosomen	12
5. Bestimmung des Phosphates in der Lipoid-fraktion	14
6. Bestimmung des Protein	14
7. Bestimmung des Levator-ani-Gewichtes	15
III Ergebnisse	16
1. Phenobarbitalversuche	18
2. Tolbutamidversuche	20
3. Methenolonversuche	21
4. Prednisolonversuche	23
IV Diskussion	25
Zusammenfassung	29
Tabellen	31
Abbildungen	42
Literatur	51

Einleitung

Wie sich in tierexperimentellen Untersuchungen nachweisen ließ, werden körperfremde Stoffe, wie z. B. eine große Zahl von Pharmaka, durch Enzyme des endoplasmatischen Retikulums der Leber mit Hilfe von TPNH und O_2 oxydiert (Brodie, Gillette, La Du, 1958) oder hydrolysiert (Remmer, 1963). Von besonderem Interesse ist dabei die Tatsache, daß viele Pharmaka während ihres Entgiftungsvorganges eine Vermehrung des endoplasmatischen Retikulums der Leberzelle hervorrufen, wie es für Phenobarbital, Nikethamid, Tolbutamid und auch andere bekannt ist, wenn diese für 3 - 5 Tage in höheren Dosen zugeführt werden. Entsprechende Nachweise gelangen mit biochemischen und morphologischen Methoden (Remmer und Merker, 1963).

Mit der Zunahme des endoplasmatischen Retikulums ist eine Vermehrung der arzneimittelabbauenden Hydroxylasen und Esterasen verbunden, die an diese Zellorganellen gebunden sind. Mit dem Anstieg der Enzymaktivität kommt es zu einem beschleunigten Abbau sehr vieler Pharmaka. So weisen Ratten, die mit Phenobarbital vorbehandelt worden sind, eine erheblich verkürzte Narkosedauer auf, weil das Narkotikum beschleunigt eliminiert wird (Remmer, 1959).

Zu den Arzneimitteln, deren induzierende Wirkung auf Enzyme des endoplasmatischen Retikulums besonders groß ist, gehören neben den obengenannten weitere Sedativa, Analeptika und auch Antihistaminika. Einen viel schwächeren Aktivierungseffekt weisen

Glucocorticoide auf, wobei noch nicht bekannt ist, ob ein Zusammenhang zwischen dieser Wirkung und dem aktivierenden Einfluß von Pharmaka steht (Remmer, 1958, Grams, 1962). Einen ähnlichen Effekt üben anabol wirksame Steroide aus (Booth und Gillette, 1962).

Nachdem in früheren Untersuchungen nur höhere Dosen von Phenobarbital und Tolbutamid benutzt wurden, um eine Vermehrung des endoplasmatischen Retikulums hervorzurufen, wurde in der vorliegenden Arbeit der Frage nachgegangen, ob sich bereits eine Wirkung auch in niedrigen Dosen, welche den therapeutischen nahekommen, nachweisen ließe. Daraus ergab sich die Frage, ob eine echte Dosis - Wirkungsbeziehung zwischen der applizierten Phenobarbitaldosis und dem Ausmaß der Vermehrung des endoplasmatischen Retikulums bestünde. Darüberhinaus sollte die Frage untersucht werden, ob der stimulierende Einfluß eines Pharmakon eventuell vergrößert werden kann, wenn gleichzeitig Nebennierenrinden- oder anabol wirkende Steroide zugeführt werden.

In einer weiteren Untersuchung an männlichen kastrierten Ratten sollte geprüft werden, ob durch längere Applikation von Methenolon - acetat (Primobolan), der erzielte anabole Effekt mit einer Vermehrung der endoplasmatischen Strukturen parallel laufe. Als Kriterium anaboler Wirksamkeit wurde eine beschleunigte Zunahme des Körpergewichtes und eine Vergrößerung des levator - ani benutzt.

Um eine Vermehrung des endoplasmatischen Retikulums festzustellen, wurden die in der Leberzelle vorhandenen weichen und rauhen Mem-

branen des endoplasmatischen Retikulums isoliert und ihr Gehalt an Protein und Lipoiden bestimmt. Jede Zunahme an Eiweiß und Lipoiden wurde als Vermehrung dieser membranähnlichen Strukturen in der Leber angesehen. Außerdem wurde die Menge des Cytochroms b_5, welches ausschließlich im endoplasmatischen Retikulum der Zelle vorkommt und die Aktivität einer Esterase, die ebenfalls nur an diese Membranen gebunden ist, gemessen. Um eine Auskunft über die Aktivität der hydroxylierenden Enzyme zu erhalten, wurde die Wirkungsdauer von Hexobarbital in vivo gemessen, die der Oxydationsgeschwindigkeit der im endoplasmatischen Retikulum gelegenen Hydroxylasen parallel läuft.

Methodik

Für die Untersuchungen wurden junge weibliche Sprague-Dawley- oder Wistarratten in einem Gewicht von etwa 25 - 35 g verwendet. Lediglich die Untersuchung, die sich mit dem anabolen Effekt des Methenolon befaßt, wurde an älteren, kastrierten, männlichen Wistarratten durchgeführt.

Die Tiere erhielten Wasser und Standardfutter (Altrogge) ad libitum. Phenobarbital (Luminal) und Tolbutamid (Rastinon) wurden als Na-Salze in wässriger Lösung, Prednisolon (Hostacortin H) und Methenolon-acetat (Primobolan) in öliger Lösung oder in Kristallsuspension stets intraperitoneal injiziert. Den Kontrolltieren wurde das Lösungsmittel appliziert. Die Lösungsweise der Pharmaka, die Häufigkeit ihrer Applikation und das Gewicht der Ratten bei Versuchsbeginn und der Dekapitation sind in den einzelnen Tabellen aufgeführt.

Bestimmung der Narkosedauer

Zur Bestimmung der Narkosedauer erhielten die Ratten 100 bzw. 150 mg / kg Hexobarbital als Na-Salz in wässriger Lösung i. p.. Nach dem Eintritt der Narkose wurden die Ratten in Rücklage gebracht. Es wurde bestimmt der Zeitraum von der Injektion des Narkotikums bis zu dem Augenblick, in dem sich die Ratte spontan aus der Rückenlage in die Bauchlage begab und versuchte sich aufzurichten (Stellreflex). Außerdem wurde registriert der Zeitpunkt, an dem es der Ratte gelang, mit den Vorderpfoten an dem oberen Rand einer Glaswand hängend, an dieser hochzuklimmen.

Da sich der Zeitpunkt bis zum Eintreten des Stellreflexes jedoch genauer festhalten läßt, wurde bei der Anfertigung der Tabellen lediglich dieser berücksichtigt, wobei der Zeitraum bis zum Eintritt des Stellreflexes = 100 % gesetzt wurde.
Zur Berechnung der Streuung (mittlere Abweichung) und der Signifikanz wurde folgende Formel verwendet :

a) Streuung : $$\sigma = \sqrt{\frac{\Sigma(\bar{M} - x)^2}{n-1}}$$

b) Signifikanz : $$t = \frac{\bar{M}_1 - \bar{M}_2}{\sqrt{\varepsilon_1^2 + \varepsilon_2^2}} \left[\varepsilon^2 = \frac{\sigma^2}{n} \right]$$

c) P - Wert : Wahrscheinlichkeit der signifikanten Differenzen zwischen beiden Mittelwerten.

Bestimmung der Lebermikrosomenbestandteile.

Aus jeder Gruppe wurden 5 Tiere ausgewählt, wobei darauf geachtet wurde, daß sich die Tiere in ihrem Wachstum ähnlich verhalten und am Tage der Dekapitation ein annähernd gleiches Gewicht hatten. Nach der Dekapitation wurde die Leber entnommen, gewogen und von jedem Tier jeder Gruppe wurde wiederum je ein Gramm möglichst bindegewebsfreien Parenchyms aus der Randzone abgewogen. Insgesamt wurden also 5 Gramm Leber pro Gruppe weiterverarbeitet. Die Lebermenge von 5 Gramm wurde halbiert, und je 2,5 g Leber mit je 2 ml Trispuffer pH 7,4 und je 8 ml isotonischer Kcl - Lösung homogenisiert. Um unter den gegebenen methodischen Voraussetzungen in einer Zentrifuge einen ganzen Versuch durchzuführen, wurde das Verhältnis Leber : Flüssigkeit wie 1 : 4 ge-

wählt.

Beim Homogenisieren ensteht aus dem endoplasmatischen Retikulum die Mikrosomenfraktion, die insofern als Kunstprodukt anzusehen ist.

Das Homogenat wurde 10 Minuten lang bei 10 000 g zentrifugiert. Im weiteren wurde sich im wesentlichen an die Methode von Fouts (1961) gehalten: Das auf diese Weise hergestellte Supernatant, das die Mikrosomen enthaltende Zellplasma, wurde mit je 3 ml einer 1,31 molaren Sacharoselösung unterschichtet und zur Trennung der Mikrosomenfraktionen 8 Stunden lang bei 40 000 U / min im Rotor 40 der Spinco-Ultrazentrifuge zentrifugiert. Während sich auf diese Weise das mit Ribosomen besetzte, schwerere endoplasmatische Retikulum als Mikrosomenfraktion I (sogenannte rough membranes) auf dem Boden des Zentrifugenröhrchens absetzte, bildeten die nicht mit Ribosomen besetzten, leichteren Mikrosomen als Mikrosomenfraktion II (sogenannte smooth membranes) an der Grenzschicht zwischen Sacharoselösung und Zellplasma einen wolkigen Niederschlag.

Bei dieser Trennung der beiden Mikrosomenfraktionen traten grössere methodische Schwierigkeiten auf, da sich geringe, nicht vermeidbare Schwankungen in der Umdrehungszahl des Rotors sogleich in dem Ergebnis niederschlugen.

Das Plasma oberhalb des von den weichen Membranen gebildeten Niederschlages wurde abgesaugt, der Niederschlag der weichen Membranen selbst und der von den rauhen Membranen gebildete Bodensatz getrennt in je 12 ml aqua dest. aufgewirbelt und erneut 2 Stunden lang bei 40 000 U / min zentrifugiert. Aqua dest. wurde deshalb

zur Suspension benutzt, weil die den Partikeln anhaftende Sacharose eine ausreichende Isotonie gewährleistete.

Die aus 5 g Leber jeder Tiergruppe hergestellte Mikrosomenfraktion I und II wurde jetzt getrennt in je 5 ml isotonischer Kcl-Lösung suspendiert. Zur Bestimmung der Procainesteraseaktivität und des Gehaltes an Cytochrom b_5 wurden je 3 ml der suspendierten Mikrosomenfraktion I und II mit 3 ml einer 1,5 % Desoxycholsäure versetzt. Darauf wurde 1 Stunde bei 40 000 U / min zentrifugiert, um auch die mit Desoxycholsäure nicht in Lösung gehenden Anteile zu entfernen. Die Desoxycholsäure-Behandlung übt keinen Einfluß auf die Esteraseaktivität und den Gehalt an Cytochrom b_5 aus.

Aktivitätsbestimmung der Procain spaltenden Esterase.

Dem Substrat, 2 ml einer 0,8 m molaren Procainlösung wurden 2 ml Trispuffer pH 8,8,- dieser Puffer enthält 180 mg Magnesiumsulfat / 100 ml -, und 1,5 ml einer 1,1 % Kcl-Lösung zugesetzt, während in dem Vergleichsansatz das Substrat durch 2 ml aqua dest. ersetzt wurde. Diese Lösung wurde bei 37 ^{o} C inkubiert. Nach 5 Minuten wurden dem Reaktions- wie dem Vergleichsansatz je 0,5 ml der mit Desoxycholsäure zentrifugierten Enzymsuspension zugegeben. Gleich anschließend wurde die erste einer Reihe spektrophotometrischer Messungen -, in der Regel insgesamt 6 an der Zahl im Abstand von jeweils 10 Minuten ,- vorgenommen. Gemessen wurde im UV-Bereich bei 315 m μ, einer Wellenlänge , bei der die Absorption des Spaltproduktes p-Aminobenzoesäure zu vernachlässigen ist, in Quarzküvetten. Dem Abfall der Extinktion um E = 0.530 entsprach eine Aktivität von 1 m mol $\cdot$ 10^{-9} , die im weiteren auf 1 mg N und 1 ml Ansatz bezogen wurde.

Da bereits innerhalb von 2 Tagen nach der Aufbereitung ein deutlicher Aktivitätsverlust der Procainesterase nachweisbar war, wurde die Aktivität grundsätzlich 24 Stunden nach der Dekapitation bestimmt.

Der Gehalt an Cytochrom b_5 wurde mit Hilfe eines Spektrophotometers (Beckmann DK 2) gemessen. Dem Reaktionsansatz, bestehend aus 2 ml der mit Desoxycholsäure zentrifugierten Enzymsuspension und 0,5 ml Phosphatpuffer pH 7,4 , wurden zur Reduktion des Cytochroms b_5 0,2 ml einer 0,5 % DPNH-Lösung zugesetzt, dem Vergleichsansatz anstelle des DPNH 0,2 ml aqua dest.. Das Differenzspektrum zwischen oxydiertem und reduziertem Cytochrom b_5 mit einem Maximum bei 426 m µ und einem Minimum bei 410 m µ wurde automatisch aufgeschrieben. Die Differenz der Extinktionen bei 426 m µ und 410 m µ ist das Maß für die vorhandene Menge des Cytochroms b_5. Dabei ergab eine Extinktionsdifferenz zwischen 426 m µ und 410 mµ von 0.160 1 mµmol / ml.(Garfinkel 1957).

Auftrennung der Phosphatbestandteile der Lebermikrosomen.

Hierfür wurde nach den Angaben von W.C. Schneider (1945) vorgegangen.

1 ml reine Enzymlösung , die 1 g Leber entsprechende Menge, wurde mit 5 ml einer 6 % Trichloressigsäure versetzt. Der sich sofort einstellende Niederschlag wurde aufgewirbelt und die Suspension nach 3 Minuten Stehenlassen 12 Minuten lang bei 3 000 U / min zentrifugiert. Der Überstand wurde abgegossen und gesammelt. Der Niederschlag wurde erneut in 2 ml der 6 % Trichloressigsäure aufgewirbelt, so daß stets eine 5 % Lösung vorlag , und in gleicher Weise zentrifugiert. Der Überstand wurde ebenfalls gesammelt. In dem Überstand von insgesamt 7 ml sind die säurelöslichen

Phosphatbestandteile aus 1 g Leber enthalten. (1. Fraktion). Der Niederschlag aus der 1. Fraktion wurde mit 1 ml H_2O und 4 ml 95 % Äthanol versetzt, aufgewirbelt und 12 Minuten lang bei 3 000 U / min. zentrifugiert. Zur Entfernung der Spuren der Trichloressigsäure wurde der Niederschlag erneut einmal mit 5 ml und dreimal mit je 3 ml 95 % Äthanol nachgewaschen und zentrifugiert. Der pH in den Überständen wurde nach jedem Waschen kontrolliert und betrug nach dreimaligem Waschen etwa pH 6 . Anschließend wurde der Niederschlag dreimal mit je 5 ml Alkoholäther (3 : 1) drei Minuten lang bis zum Sieden erhitzt und nach Abkühlen zentrifugiert. Der Alkoholätherextrakt enthält die mikrosomalen Lipoproteide. (2. Fraktion). Da bei der Alkoholätherextraktion oft ungleiche Mengen Äther verdampften, wurden die gesammelten Überstände bis zu einer bestimmten Zahl ml mit aqua dest. aufgefüllt. Auf die Extraktion der Nukleinsäuren wurde in dieser Arbeit verzichtet, da diese, wie Untersuchungen an den Lebermikrosomen der Kaninchen gezeigt haben (Remmer, 1963), nicht oder nur in sehr geringem Maß an der Vermehrung des endoplasmatischen Retikulums durch Arzneimittelvorbehandlung teilnehmen.

Da die Menge der in der 1. Fraktion enthaltenen säurelöslichen Phosphate sehr gering war, - sie betrug nach eigenen Untersuchungen im Mittel als Summe beider Mikrosomenfraktionen um 1,5 m mol P / 1 g Leber -, wurde auf deren Bestimmung verzichtet.

Auch der Proteingehalt der 4. Fraktion wurde nicht bestimmt, als sich zeigte, daß sich in dieser Fraktion nur noch etwa 60- 70 % des in der Ausgangslösung bestimmten Proteingehaltes wiederfinden lassen. Das fehlende Protein war nämlich mit den Lipoiden in der 2. Fraktion extrahiert worden.

Bestimmung des Phosphates in der Lipoidfraktion.

Hierzu wurde die von Berenblum und Chaine beschriebene Methode angewandt.

2 ml der nach W.C. Schneider erhaltenen Lösung wurden mit 10 ml 10 n Perchlorsäure versetzt und in Veraschungskolben verascht. Nach Abkühlen wurde das veraschte Material quantitativ mit 6,5 ml H_2O in Schütteltrichter übergespült und nach Zusatz von 2,5 ml 2 % NH_4- Molybdat und 10 ml Isobutylalkohol 1 Minute kräftig geschüttelt . Anschließend wurde die wässrige Phase abgelassen und die alkoholische Phase zweimal mit je 5 ml einer 1 n H_2SO_4 durch eine Minute Schütteln gereinigt. Mit dem Zugeben von 15 ml einer 0,5 % $SNcl_2$- Lösung (0,5 g $SNcl_2$ auf 100 ml einer 1 n H_2SO_4) bildete sich ein Komplex der reduzierten Phosphormolybdänsäure mit dem Zinn. Diese Farblösung wurde in Meßkölbchen mit Äthanol ad 25 ml aufgefüllt und bei ihrem Absorptionsmaximum , 725 m µ, spektrophotometrisch gegen H_2O gemessen. Als Eichwert diente 1 ml einer 1 m molaren KH_2PO_4 , die die Phosphatbestimmung einschließlich Veraschung mitdurchlief.

Die so erhaltene Anzahl µ mol P wurde mit der Verhältniszahl 25 multipliziert (Dallner,1963), um den entsprechenden Wert an Phospholipoiden zu erhalten.

Bestimmung des Protein .

Die Bestimmung erfolgte nach der Biuret-Methode.

0,5 ml der mit Desoxycholsäure zentrifugierten Enzymsuspension wurden mit 0.2 n NAOH ad 2 ml aufgefüllt; zugesetzt wurden 2 ml Biuretreagenz. Spektrophotometrisch wurde bei einer Wellenlänge von 550 m µ gegen den Vergleichsansatz , der anstelle der Proteinlösung 0,5 ml einer 0.2 n NAOH enthielt, gemessen. Eine Extinktion

von E = 0.100 entsprach bei diesem 4 ml Ansatz 1,19 mg Mikrosomenprotein, das nach der Kjeldahl-Methode bestimmt worden war. Geeicht wurde dieses Verfahren laufend durch Kontrollbestimmungen der gleichen Proteinlösungen mit der Kjeldahl-Methode.

Bestimmung des Levator-ani-Gewichtes.

Die Bestimmung des Levator-ani-Gewichtes als ein Kriterium anaboler Wirksamkeit wurde an männlichen , kastrierten Ratten vorgenommen ,die in einem Langzeitversuch mit 4 mg Methenolon, 80 mg Tolbutamid oder dem Lösungsmittel vorbehandelt worden waren. Zur Kastration wurde den Ratten in Äthernarkose das Scrotum eröffnet und nach Unterbindung des funiculus spermaticus die Hoden entfernt. Die Wunde wurde geklammert. 6 Tage nach der Kastration wurden die Ratten in den Versuch genommen. Nach einer Vorbehandlung mit 30 Injektionen der jeweiligen Pharmaka , alle 2 Tage appliziert, wurden die Tiere dekapitiert. Das Abdomen wurde eröffnet, die Symphyse durchtrennt und auf der Dorsalseite des Rektums, der quer über dieses verlaufende levator ani mit einer feinen Pinzette aufgesucht und an seinen beiden Ansatzanstellen durchtrennt. Dabei wurde darauf geachtet , den levator ani möglichst dort zu durchtrennen, wo er kurz vor seinem Ansatz von einem zarten Gefäß überlaufen wird. (Eisenberg und Gordan, 1950).
Das Gewicht des levator ani wurde auf einer Mettler-Waage bestimmt.

Ergebnisse.

Tabelle 1 gibt die Mittelwerte mit der mittleren Abweichung für den Gehalt an Protein, Phospholipoiden und das Cytochrom b_5 in den sogenannten Mikrosomenfraktionen I und II an, die aus der Leber unvorbehandelter , jugendlicher, weiblicher Ratten in 7 Versuchen isoliert wurden. Außerdem ist die Aktivität einer nur in den Mikrosomen vorkommenden Esterase angeführt, für die als Substrat Procain verwendet wurde.

Der Proteingehalt der Gesamtmikrosomenfraktion streut um 12 %, der Phospholipoidgehalt um 19 %, die Aktivität der Procainesterase um 22 % . Diese Streuung ist darauf zurückzuführen, daß sich die Tiere in den 7 Versuchen bei der Aufbereitung der Leber in einem verschiedenen Stadium ihres Wachstums befanden , und daß es nicht möglich war, für sämtliche Versuche den gleichen Inzuchtstamm zu verwenden. Rassenspezifische Differenzen der Aktivität mikrosomaler Enzyme wurden von Quinn, Axelrod, Brodie (1959), Kato et al. (1964) und Magour (1964) berichtet.

Wegen der oben dargestellten methodischen Schwierigkeiten ist die Streuung der verschiedenen Mittelwerte nach der Trennung in die beiden Mikrosomenfraktionen deutlich höher. Der Proteingehalt in der Mikrosomenfraktion II, den weichen Membranen, schwankt um 16 % , der Phospholipoidgehalt um 28 %, die Aktivität der Procainesterase um 34 %, der Gehalt an Cytochrom b_5 um 14 %. In der Mikrosomenfraktion I, den rauhen Membranen,ist die Streuung ähnlich breit.

Da jedoch die Werte jedes einzelnen Versuches, bestehend aus einer Gruppe unvorbehandelter Kontrollen und mehreren Gruppen unterschiedlich vorbehandelter Tiere, stets mit dem gleichen Tiermaterial und unter den gleichen methodischen Bedingungen gewonnen wurden, sind diese innerhalb der einzelnen Versuchsreihe stets vergleichbar. Aus diesem Grund wurden die Ergebnisse eines Versuches mit der entsprechenden Kontrolle in jeweils einer Tabelle zusammengefaßt.

Erreicht und übersteigt in einer Versuchsreihe die Differenz in den mikrosomalen Fraktionen zwischen vorbehandelten und unvorbehandelten Tieren den Streubereich, der auf Tabelle 1 für die Kontrollen aus 7 Versuchen dargestellt ist, dann ist dieser Unterschied mit sehr großer Wahrscheinlichkeit als Medikamentwirkung anzusehen.

Um eine Verunreinigung der Mikrosomenfraktionen mit Mitochondrien zu vermeiden, mußte darauf verzichtet werden die spezifisch schwereren, rauhen Membrananteile quantitativ zu erfassen. Insofern liegen z.B. die für das mikrosomale Protein gewonnenen Werte unter denjenigen die einige andere Autoren unter etwas anderen Bedingungen gefunden haben (Tab.2).

Jeder Anstieg des Proteins in der Fraktion II wird als eine Vermehrung der weichen endoplasmatischen Membranen angesehen. Inwieweit die Zunahme des Gehaltes an Phospholipoiden, Cytochrom b_5 und der Aktivität der Procainesterase dem Anstieg des Proteins entspricht, ist auf den Tabellen angegeben, da diese Mikrosomenbestandteile auch auf den Proteingehalt der jeweiligen Mikrosomenfraktion bezogen werden.

Da die Vermehrung des endoplasmatischen Retikulums vornehmlich in der Mikrosomenfraktion II, den weichen Membranen, stattfindet, wie auch aus den Untersuchungen von Remmer (1964) und

Fouts (1961) hervorgeht, wird in den folgenden Ergebnissen die Vermehrung dieser Fraktion gegenüber der entsprechenden Fraktion der unvorbehandelten Tiere angegeben. Nur in den Fällen, in welchen eine ungünstige Trennung der beiden Fraktionen eine Aussage allein in der Fraktion II nicht gestattet, werden die Gesamtmikrosomenfraktionen untereinander verglichen.

Phenobarbitalversuche

Nach 12 Injektionen von 2mg Phenobarbital täglich nimmt die Procainesteraseaktivität in der Mikrosomenfraktion II um 25 % zu (Tab.6). 4 mg Phenobarbital, alle 2 Tage appliziert, führen nach insgesamt 12 Injektionen zu einem Anstieg der Procainesteraseaktivität um 80 % (Tab. 7). 11 bzw. 17 Injektionen von 5 mg Phenobarbital täglich haben einen noch deutlicheren Effekt auf die Procainesteraseaktivität , gleichzeitig wird auch der Gehalt an Cytochrom b_5 vermehrt.(Tab. 3 und 4). 22 Injektionen von 10 mg Phenobarbital haben eine ähnliche Wirkung auf die untersuchten Mikrosomenbestandteile wie 17 Injektionen von nur 5 mg (Tab.8). Nach 11 Injektionen von 25 mg Phenobarbital läßt sich neben einer weiteren Zunahme der Procainesteraseaktivität und des Cytochrom b_5 Gehaltes auf nunmehr über 100 % in der Mikrosomenfraktion II, auch eine deutliche Vermehrung der Phospholipoide und des Proteins nachweisen (Tab. 3) . Durch 5 weitere Injektionen wird die Vermehrung nicht weiter gesteigert (Tab.4). Auch 21 Injektionen von 50 mg Phenobarbital bewirken keinen größeren Effekt (Tab. 9). 8 Tage nach der letzten von insgesamt 20 Injektionen mit 5 bzw. 25 mg Phenobarbital ist keine Vermehrung des endoplasmatischen Retikulums mehr nachzuweisen (Tab. 5) .

Vergleicht man diese Ergebnisse mit den Versuchen, in denen die

Narkosedauer nach einer Hexobarbitalgabe an Ratten untersucht wird, die in gleicher Weise und mit den gleichen Phenobarbitaldosen vorbehandelt worden sind, so ergibt sich eine interessante Parallelität. Die niedrigste Dosis von 2 mg , 5 bzw. 12 Tage appliziert, die in vitro nur eine leichte Vermehrung der Procainesteraseaktivität bewirkt hat, ruft in vivo eine mäßige Verkürzung der Hexobarbitalnarkose hervor, die nach 12 Injektionen signifikant ist. Eine Verdoppelung der Vorbehandlungsdosis führt zu einer deutlichen Verminderung der Narkosedauer : Bereits nach einmaliger Gabe ist diese um 37 % verkürzt, nach 3 Tagen um 50 % (Abb.1).

Greift man diejenigen Werte aus Abbildung 1 heraus , welche die Dauer der Hexobarbitalnarkose nach 3 - 7 maliger Vorbehandlung mit Phenobarbital in steigenden Dosen darstellen, so läßt sich eine echte Beziehung zwischen Dosis und Wirkung zum Ausdruck bringen (Abb. 2).

Die Dauer der Narkose beruht auf der Geschwindigkeit des in-vivo-Abbaus von Hexobarbital , der wiederum von der Aktivität des hydroxylierenden Enzymsystems in den Lebermikrosomen abhängig ist. Jede Verkürzung der Narkose ist ein Zeichen erhöhter Aktivität dieser Enzyme (Brodie, Cooper, 1955, Remmer 1960).

Nachdem sich gezeigt hatte, daß auch geringe Dosen von Phenobarbital, dessen induzierende Wirkung auf die mikrosomalen hydroxylierenden Enzyme schon länger bekannt war (Remmer 1959), gleichzeitig zu einer Vermehrung des endoplasmatischen Retikulums führten, erhob sich die Frage, ob auch andere Medikamente mit induzierender Wirkung auf die Mikrosomenenzyme, wie z.B. das Tolbutamid, ebenfalls eine Zunahme des endoplasmatischen Retikulums bewirken.

Tolbutamidversuche

Nach 11 Injektionen von 10 mg Tolbutamid täglich steigt der Gehalt an Phospholipoiden , Protein und Cytochrom b_5 um je etwa 25 % an, kaum über die Fehlerbreite hinausgehend.(Tab. 3) . Da die Werte nach 9 weiteren Injektionen durchweg noch niedriger liegen, habe ich in dem folgenden Versuch die Dosis verdoppelt, um die kleinste, sicher wirksame Tolbutamiddosis festzustellen. In diesem Versuch gelang die Trennung in die einzelnen Mikrosomenfraktionen nicht. Die Werte der Fraktion I sind zugunsten der Werte aus der Fraktion II erniedrigt. Dennoch läßt sich eine Vermehrung des endoplasmatischen Retikulums aus dem Vergleich der Summen beider Fraktionen erkennen. Die Phospholipoide werden durch diese Vorbehandlung nur geringgradig, das Protein und der Gehalt an Cytochrom b_5 jedoch deutlich erhöht.(Tab. 8). 22 Injektionen von 50 mg Tolbutamid täglich bringen in dem gleichen Versuch lediglich eine weitere Zunahme des Gehaltes an Cytochrom b_5. In zwei weiteren Versuchen mit 50 mg Tolbutamid täglich findet sich ein um etwa 50 % vermehrter Gehalt an Cytochrom b_5 und ein um etwa 35 % vermehrter Gehalt an Phospholipoiden. Die Zunahme des Proteins in der Gesamtmikrosomenfraktion beträgt etwa 20 % , die der Procainesteraseaktivität 50 % (Tab. 3 und 4).

Die Hexobarbitalnarkose wird in diesem Dosierungsbereich nicht signifikant verkürzt. Dieser Befund ist mit der nachgewiesenen Vermehrung des endoplasmatischen Retikulums vorläufig noch nicht in Einklang zu bringen. Erst nach einer Vorbehandlung mit 200 mg Tolbutamid täglich gelingt es die Dauer der Hexobarbitalnarkose signifikant zu verkürzen,(Abb. 3), was auch früheren Untersuchungen entspricht (Krause, 1962) .

Nachdem sich zeigen ließ, daß Tolbutamid und Phenobarbital eine ähnliche Wirkung auf das endoplasmatische Retikulum haben, ergab sich die Frage, ob auch die Wirkung anderer in der Therapie häufig angewandter Pharmaka, wie z. B. das Methenolon, mit dieser vergleichbar sei. Das Methenolon war besonders interessant , weil dieses Medikament neben einem geringfügigen induzierenden Einfluß auf die Aktivität mikrosomaler Enzyme eine sogenannte anabole Wirkung besitzt. Als Anabolikum steigert es im Muskel und in den männlichen Geschlechtsorganen die Proteinsynthese. Dieser Effekt ist als eine echte androgene Wirkung aufzufassen. Daher stellte sich die Frage, ob dieses Steroid auch eine Bildung von endoplasmatischem Retikulum in der Leber anregt. Da in der Therapie häufig mehrere Arzneimittel gleichzeitig appliziert werden, sollte auch die Kombination von Methenolon und Phenobarbital in ihrer Wirkung auf das endoplasmatische Retikulum untersucht werden.

Methenolonversuche

Um bei der Vorbehandlung mit Methenolon gleichzeitig die anabole Wirkung zu untersuchen, die beim weiblichen, jugendlichen Tier besonders deutlich ist (Korner und Young, 1955), verwendete ich in diesem Versuch sehr junge Ratten mit einem Anfangsgewicht von 26 $\pm$ 4 g . Diese Ratten wurden 3 Tage nach dem Entfernen vom Muttertier in den Versuch genommen und in diesen ersten Tagen noch mit Milch ernährt.

2 mg Methenolon in öliger Lösung zeigen keinen deutlichen Effekt auf das endoplasmatische Retikulum. Wenn gleichzeitig 2 mg Phenobarbital appliziert werden, die allein nur einen geringen Einfluß haben, dann läßt sich eine Vermehrung aller untersuchter Mikrosomenbestandteile um etwa 50 % in der Mikrosomenfraktion II beob-

achten (Tab. 6) . Dieser in vitro-Befund stimmt überein mit der Verkürzung der Hexobarbitalnarkose in vivo, die nach 5 Injektionen bereits um 47 % , nach 12 Injektionen um 62 % verkürzt wird, während 2 mg Phenobarbital allein nur eine Verkürzung um 24 bzw. 31 % bewirken.(Abb.4). Am Ende dieses Versuches , nach 12 Injektionen, konnte ich eine signifikante Erhöhung des Körpergewichtes durch das anabol wirkende Methenolon und in noch größerem Maß durch die Kombination von Methenolon mit Phenobarbital feststellen (Tab. 10).

In einem weiteren Versuch verringerte ich die Methenolondosis, indem ich bei gleicher Dosis den Abstand zwischen den Injektionen von 24 auf 48 Stunden verlängerte. Nach 12 Injektionen wird durch diese Dosis lediglich die Procainesteraseaktivität um 40 % gesteigert (Tab. 7). Die Hexobarbitalnarkose wird durch die kombinierte Vorbehandlung mit Methenolon und Phenobarbital nach 10 Injektionen um 51 % verkürzt, sie ist damit deutlich kürzer als nach der alleinigen Vorbehandlung mit Methenolon oder Phenobarbital.(Abb.4). Das Körpergewicht steigt bei dieser Dosis nicht an.(Tab. 10). Dabei ist zu berücksichtigen, daß das Anfangsgewicht der Ratten in diesem Versuch mit 34 $\pm$ 5 g deutlich höher ist als in dem vorigen Versuch.

In einem weiteren Versuch verabreichte ich wieder täglich 2 mg Methenolon, jetzt jedoch in Kristallsuspension. Bei dieser Applikation war die Vermehrung des endoplasmatischen Retikulums deutlicher als nach der gleichen Dosis in öliger Lösung.(Tab. 9). Die Verdoppelung der Dosis führt lediglich zu einer weiteren Verkürzung der Hexobarbitalnarkose. (Abb. 5).

Um die Wirkung des Methenolons als Anabolikum genauer zu untersuchen, wurden männliche Ratten mit einem Körpergewicht von etwa 100 g kastriert und mit 4 mg Methenolon in Kristallsuspension

alle 2 Tage vorbehandelt. Zum Vergleich wurde einer anderen Gruppe ebenso kastrierter Ratten in dem gleichen Abstand 80 mg Tolbutamid injiziert. Die Kontrollen erhielten das Lösungsmittel. Gleichzeitig sollte das Levator -ani-Gewicht gemessen werden und darauf geachtet werden, ob eine Zunahme des Körpergewichtes mit einer Vergrößerung des levator ani einhergeht.
Eine anabole Wirkung des Methenolon ließ sich in diesem Wachstumstest nicht nachweisen. Das Gewicht aller 3 Tiergruppen war gleich. Jedoch wurde das Gewicht des levator ani vervierfacht. (Tab. 11) .
Nachdem sich herausgestellt hatte, daß die Wirkung eines anabolen Steroides auf das endoplasmatische Retikulum durchaus der Wirkung anderer Pharmaka, wie Phenobarbital und Tolbutamid vergleichbar ist, wurde die Wirkung eines katabolen Steroides untersucht.

Prednisolonversuche

12 Injektionen von o,5 mg Prednisolon in Kristallsuspension führen zu einer deutlichen Vermehrung des mikrosomalen Proteins, der Phospholipoide und zu einer geringen Vermehrung des Gehaltes an Cytochrom b_5 und der Aktivität der Procainesterase. Die Dauer der Hexobarbitalnarkose wird nach 5 Injektionen um 34 % verkürzt. Durch die gleichzeitige Gabe von 2 mg Phenobarbital wird die Aktivität der Procainesterase weiter erhöht (Tab. 6) , und auch die Narkosedauer wird weiter verkürzt (Abb. 6) .
Erstaunlicherweise wurde in diesem Versuch das Körpergewicht der mit Prednisolon vorbehandelten Tiere gegenüber den unvorbehandelten Kontrollen um 14 % signifikant erhöht.
Als ich in einem weiteren Versuch die Prednisolondosis verdoppelte, indem ich alle 2 Tage 2 mg in öliger Lösung verabreichte,

war die Wirkung auf das endoplasmatische Retikulum deutlich geringer (Tab. 7). Dem entsprach auch eine nur geringe Verkürzung der Hexobarbitalnarkose nach dieser Vorbehandlung (Abb. 6) . Durch die gleichzeitige Gabe von 4 mg Phenobarbital wurde die Hexobarbitalnarkose etwas stärker verkürzt. Im Vergleich zu dem ersten Versuch mit Prednisolon wird damit deutlich, daß die Applikationsweise einen erheblichen Einfluß auf diese Wirkung hat.

Diskussion

Phenobarbital regt in höheren Dosen - wie frühere Untersuchungen von Remmer (1963, 1965) zeigen - eine Vermehrung der weichen Membranen des endoplasmatischen Retikulums der Leberzelle an. Diese Wirkung tritt bereits nach Gaben von 5 - 25 mg, die den therapeutisch verwendeten sehr nahe kommen, auf und ist dosisabhängig. Dosen von 2 - 4 mg führen dagegen nur zu einem mäßigen Anstieg der Aktivität einer Esterase und des Gehaltes an Cytochrom b_5 (Abb. 7),(Abb. 8). Auch eine Verkürzung der Hexobarbitalnarkose, die als ein Maß für die Aktivität mikrosomaler hydroxylierender Enzyme anzusehen ist (Remmer 1959), läßt sich ebenfalls bei den niedrigsten Dosen nachweisen (Abb. 1).Die Vermehrung einzelner Enzyme ohne gleichzeitige, entsprechende Zunahme des Proteins ist ein durchaus üblicher Befund und ist auch nach höheren Dosen Phenobarbital zu beobachten, wenn diese nur einmal appliziert werden (Remmer und Merker 1963). So berichten auch Conney und Klutch (1963), daß die Aktivität gewisser Enzyme schneller und stärker ansteigt als das Gesamtprotein.
Trotz umfangreicher biochemischer und morphologischer Untersuchungen ist der Mechanismus , der der Vermehrung des endoplasmatischen Retikulums nach einer Arzneimittelvorbehandlung zugrunde liegt, noch nicht geklärt. Ausgehend von der Beobachtung , daß der Einbau radioaktiv markierter Aminosäuren in das Eiweiß der Mikrosomenfraktion nach Vorbehandlung mit Methylcholanthren und Phenobarbital beschleunigt wird (Gelboin und Sokoloff 1961) , haben diese Autoren festgestellt, daß Methylcholanthren zu einer Vermehrung des Messenger-RNS-Gehaltes führt. Gleichzeitig werden die Ribosomen gegenüber zugeführter Messenger-RNS empfindlicher.

Kato, Loeb und Gelboin (1965) setzten diese Untersuchungen fort und stellten fest, daß auch Phenobarbital, ähnlich wie Methylcholanthren, die Eiweißsynthese in Mikrosomen anregt.
Dennoch bestehen Differenzen in der Art der Induktion mikrosomaler Enzyme durch Phenobarbital und Methylcholanthren. Während Phenobarbital bereits nach einer Injektion den Hexobarbitalabbau beschleunigt, bleibt die Vorbehandlung mit Methylcholanthren ohne Einfluß auf diesen Hydroxylierungsvorgang (Conney und Burns 1963). Wie die obigen Versuche zeigen, scheint nun auch ein Unterschied in der Wirkungsweise von Phenobarbital und Tolbutamid zu bestehen, für den keine Erklärung gefunden werden konnte. Erst in hohen Dosen von 200 mg führte die Tolbutamidvorbehandlung zu einer signifikanten Verkürzung der Hexobarbitalnarkose als Zeichen einer Enzyminduktion, während schon durch die niedrige, therapeutisch übliche Dosis von 20 mg täglich eine geringe, aber deutliche Vermehrung des mikrosomalen Proteins und der Phospholipoide auftrat. Nach Vorbehandlung mit Phenobarbital hingegen verkürzte sich die Hexobarbitalnarkose schon signifikant durch Dosen von nur 2 mg, und erst durch Applikation höherer Dosen von 25 mg wurde ein Zuwachs an Protein und Phospholipoiden in der Mikrosomenfraktion beobachtet.
Auch die Wirkung eines anabol wirkenden Androgens, des Methenolons, auf das endoplasmatische Retikulum ähnelt in dem untersuchten Dosierungsbereich von 2 - 4 mg / kg täglich der Wirkung einer Phenobarbitalvorbehandlung in sehr kleinen Dosen. Eine Kombination des Methenolons mit Phenobarbital führte zu einer deutlichen Verstärkung der Wirkung, die auch über das hinausging, was durch

die gleiche Dosis Phenobarbital ohne Zusatz von Methenolon beobachtet wurde.

Erstaunlicherweise vermehrte auch Prednisolon, ein katabol wirkendes Steroid, das endoplasmatische Retikulum. Neben der schon früher beobachteten Verkürzung der Hexobarbitalnarkose als Ausdruck einer Aktivitätssteigerung hydroxylierender Enzyme nach Applikation von Glucocorticoiden (Remmer 1958, Grams 1962), zeigte sich nach Gabe von Prednisolon eine deutliche Vermehrung aller untersuchter Mikrosomenbestandteile, die derjenigen nach einer Vorbehandlung mit einer größeren Phenobarbitaldosis entsprach.

Die Hypertrophie des endoplasmatischen Retikulums scheint ein unspezifischer Effekt zu sein, der mit der sogenannten anabolen Wirkung von androgenen Steroiden nicht in Zusammenhang steht und von verschiedenen Arzneimitteln und Steroiden hervorgerufen wird. Als Zeichen einer anabolen Wirkung wird üblicherweise die Beschleunigung des Wachstums junger weiblicher Tiere angesehen. In der Tat gelang es bei jungen Ratten, die als sogenannte weanling rats sehr früh von dem Muttertier entfernt worden und in den Versuch genommen worden waren, durch Methenolon eine schnellere Gewichtszunahme zu beobachten. Dieser Effekt ist auch völlig unspezifisch, da er mit Phenobarbital ebenfalls herbeizuführen war. Sogar das Prednisolon mit einer sogenannten katabolen Wirkung beschleunigte die Gewichtszunahme dieser sehr jungen Ratten signifikant. Wenn die Ratten jedoch, wie andere Versuche zeigen, ein gewisses Alter erreicht hatten und zur Zeit des Versuchsbeginns 34 bzw. 39 g schwer waren, dann war auch durch sogenannte Anabolika wie Methenolon keine signifikante Körpergewichtszunahme

mehr hervorzurufen.

Die von Junkmann und Suchowsky (1962) beobachtete Beschleunigung des Wachstums männlicher, kastrierter Ratten durch Vorbehandlung mit Methenolon ließ sich durch Dosen von 4 mg (alle 2 Tage appliziert) nicht bestätigen. Lediglich das Levator-ani-Gewicht wurde vervierfacht. Kann eine Gewichtszunahme des levator ani als Test für die anabole Wirksamkeit angesehen werden ? Nach dem Ergebnis dieses Versuches an männlichen kastrierten Ratten sollte man wie Nimni und Geiger (1957) den levator ani zu den sekundären Geschlechtsmerkmalen rechnen. Eine Gewichtszunahme dieses Muskels ist somit ein Zeichen einer typischen androgenen Wirkung. Nur dann, wenn es zu einer echten Vermehrung von Körpereiweiß kommt, sollte man von einer echten anabolen Wirksamkeit sprechen. Androgene besitzen einen solchen Effekt, da jede echte androgene Wirkung von einer anabolen nicht zu trennen ist (Remmer 1965). Mit einer Vermännlichung des Habitus ist eine Hypertrophie bei sehr vielen Tierspezies und auch beim Menschen verknüpft.

Die Körpergewichtszunahme sehr junger, weiblicher Ratten, die allgemein als Ausdruck einer anabolen Wirkung betrachtet wird, ist wie die eigenen Versuche zeigen ein völlig unspezifischer Effekt, der merkwürdigerweise mit einer Zunahme des endoplasmatischen Retikulums zeitlich einhergeht. Ob ein ursächlicher Zusammenhang besteht muß vorläufig noch offen bleiben.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß kleiner Dosen von Phenobarbital, Tolbutamid, Methenolon und Prednisolon auf eine Vermehrung des endoplasmatischen Retikulums in der Rattenleber untersucht. Um eine Vermehrung des endoplasmatischen Retikulums festzustellen, wurden die in der Leberzelle vorhandenen weichen und rauhen Membranen dieser Strukturen isoliert und ihr Gehalt an Protein und Phospholipoiden bestimmt. Außerdem wurde die Menge des Cytochroms b_5, welches ausschließlich im endoplasmatischen Retikulum der Zelle vorkommt und die Aktivität einer Esterase gemessen, die ebenfalls an diese Strukturen gebunden ist. Zur Bestimmung der Aktivität der hydroxylierenden Enzyme wurde die Wirkungsdauer von Hexobarbital in vivo gemessen, die der Oxydationsgeschwindigkeit der im endoplasmatischen Retikulum gelegenen Hydroxylasen parallel läuft. Außerdem wurde die anabole Wirkung des Methenolons im Wachstumstest und durch die Bestimmung des Levator-ani- Gewichtes untersucht.

Es zeigte sich, daß alle untersuchten Pharmaka auch schon in geringen Dosen eine Vermehrung des endoplasmatischen Retikulums bewirken. Allerdings scheint ein Unterschied in der Wirkung auf das endoplasmatische Retikulum zwischen Phenobarbital und Tolbutamid zu bestehen. Während Phenobarbital bereits in Dosen von 2 mg zu einer Aktivierung der hydroxylierenden Enzyme führt, bewirken erst Dosen von 25 mg eine deutliche Vermehrung des endoplasmatischen Retikulums. Tolbutamid hingegen löst bereits in Dosen von 20 mg eine Vermehrung des endoplasmatischen Retikulums aus, während die Aktivität der hydroxylierenden Enzyme erst durch Dosen von

200 mg signifikant gesteigert wird.

Auch die Körpergewichtszunahme junger , weiblicher Ratten wurde sowohl durch Methenolon als auch durch Phenobarbital und Prednisolon signifikant beschleunigt. Dagegen ließ sich das Wachstum männlicher, kastrierter Ratten durch Methenolon nicht beeinflussen, während das Levator-ani-Gewicht jedoch vervierfacht wurde. Die Gewichtszunahme junger Tiere sollte nicht als Kriterium für eine anabole Wirksamkeit angesehen werden. Sie steht in einem noch nicht bekannten Zusammenhang mit der Vermehrung des endoplasmatischen Retikulums in der Leber. Anabole und androgene Wirkung werden diskutiert.

Tab. I

MIKROSOMEN-FRAKTION	MIKROSOMEN - PROTEIN	PHOSPHOLIPOIDE		CYTOCHROM b_5		PROCAINESTERASE - AKTIVITÄT	
	mg / g Leber	mg / g Leber	mg /1mg PROT.	m u mol/g Leber	m u mol. / 1 mg PROT.	AKTIVITÄT / g	AKTIVITÄT/ 1 mg PROT.
I	6.4 ± 1.5 (±24%)	2.9 ± o.7 (±24%)	o.5 ± o.1	3.1 ± o.7 (±22%)	o.5 ± o.1	21.o ± 4.1 (±24%)	3.5 ± o.8
II	9.o ± 1.4 (±16%)	4.o ± 1.1 (±28%)	o.4 ± o.1	4.3 ± o.6 (±14%)	o.5 ± o.1	3o.5 ±1o.5 (±34%)	3.3 ± o.9
	15.4 ± 1.8 (±12%)	6.9 ± 1.3 (±19%)	o.5 ± o.1	7.4 ± 1.o (±14%)	o.5 ± o.1	51.o ±11.5 (±22%)	3.4 ± o.9

Mittelwerte mit mittlerer Abweichung der einzelnen untersuchten Mikrosomenbestandteile aus 7 Versuchen.

Verschiedene Autoren geben für den Gehalt an Mikrosomenprotein in der Rattenleber folgende Werte an :

Autoren	mg Protein / g Leber
Orrenius et al.(1965)	24.1
Palade und Siekevitz (1956)	19.5
Price und Miller (1948)	16.0
Remmer (1964)	15.9 (beim Kaninchen)
eigene Versuche	15.4 $\pm$ 1.8

Tab. 3

	MIKROSOMEN-PROTEIN mg / g			PHOSPHO-LIPOIDE mg / g			PHOSPHO-LIPOIDE / 1 mg Prot.			CYTOCHROM b_5 m u mol./ g			CYTOCHROM b_5 /1 mg Prot.			PROCAIN - ESTERASE - AKTIVITÄT/g			PROCAIN - ESTERASE - AKTIVITÄT/mg			MITTL. LEBER-GEW.
	MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			g / loo g Körper gew.
	I	II		I	II		I	II		I	II		I	II		I	II		I	II		
KONTROLLE	7.o	7.1	14.1	2.6	3.6	6.2	o.4	o.5	o.4	3.o	3.4	6.4	o.4	o.5	o.5	19.6	24.o	43.6	2.8	3.4	3.1	4.9
5 mg PHENOBARBITAL	7.2	8.9	16.1	2.7	4.o	6.7	o.4	o.5	o.4	3.6	4.5	8.1	o.5	o.5	o.5	11.8	52.9	64.7	1.6	6.o	4.o	5.8
25 mg PHENOBARBITAL	7.5	9.2	16.7	2.3	5.8	8.2	o.3	o.6	o.4	3.4	6.9	lo.3	o.5	o.8	o.6	25.o	55.o	8o.o	3.3	6.o	4.8	5.6
lo mg TOLBUTAMID	7.4	8.9	16.3	2.6	4.7	7.3	o.4	o.5	o.5	3.6	4.1	7.7	o.5	o.5	o.5	15.8	31.6	46.4	2.1	3.6	2.8	4.9
5o mg TOLBUTAMID	7.3	9.6	16.9	2.5	5.7	8.2	o.3	o.6	o.5	3.4	5.8	9.2	o.5	o.6	o.5	17.8	41.5	59.3	2.4	4.3	3.5	4.5

Sämtliche Pharmaka wurden als Na- Salze in wässriger Lösung i.p. injiziert. Insgesamt 11 Injektionen. Die Kontrollen erhielten das Lösungsmittel.

Mittleres Körpergewicht bei Versuchsbeginn : 31 $\pm$ 7 g, mittleres Körpergewicht bei der Dekapitation : 72 $\pm$ 12 g .

Tab. 4

	MIKROSOMEN-PROTEIN mg/ g			PHOSPHO'-LIPOIDE mg/ g			PHOSPHO - LIPOIDE /1 mg Prot.			CYTOCHROMb$_5$ m u mol/ g			CYTOCHROM b$_5$ / 1 mg Prot			PROCAIN-ESTERASE-' AKTIVITÄT/g			PROCAIN'-ESTERASE - AKTIVITÄT/mg			MITTL. LEBER-GEW.
	MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			g/ loo g Körper gew.
	I	II		I	II		I	II		I	II		I	II		I	II		I	II		
KONTROLLE	4.8	8.8	13.6	2.2	3.3	5.5	o.5	o.4	o.4	2.6	4.3	6.9	o.5	o.5	o.5	15,9	22.2	38.1	3.3	2.5	2.8	5.1
5 mg PHENOBARBITAL	5.7	1o.4	16.1	2.6	4.o	6.6	o.5	o.4	o.4	2.7	7.o	9.7	o.5	o.7	o.6	22.2	32.7	54.9	3.9	3.1	3.4	5.8
25 mg PHENOBARBITAL	5.5	11.6	17.1	2.5	4.9	7.4	o.5	o.4	o.4	2.8	7.2	1o.o	o.5	o.6	o.6	21.4	44.5	65.9	3.8	3.9	3.9	5.7
1o mg TOLBUTAMID	5.4	8.8	14.2	1.9	3.6	5.5	o.4	o.4	o.4	1.9	5.3	7.2	o.4	o.6	o.5	14.2	24.o	38.2	2.6	2.7	2.7	4.9
5o mg TOLBUTAMID	6.o	1o.3	16.3	2.5	5.o	7.5	o.4	o.5	o.5	2.3	7.3	9.3	o.4	o.7	o.6	2o.5	39.o	59.5	3.4	3.8	3.7	5.3

Sämtliche Pharmaka wurden als Na-Salze in wässriger Lösung täglich i.p. injiziert. Insgesamt 17 Injektionen. Die Kontrollen erhielten das Lösungsmittel.

Körpergewicht bei Versuchsbeginn : 31 $\pm$ 7 g, Körpergewicht bei der Dekapitation : 95 $\pm$ 4 g .

Tab. 5

	MIKROSOMEN-PROTEIN mg / g			PHOSPHO - LIPOIDE mg / g			PHOSPHO - LIPOIDE / 1 mg Prot.			CYTOCHROM b_5 m u mol./g			CYTOCHROM b_5 /1 mg Prot.			PROCAIN - ESTERASE - AKTIVITÄT/g			PROCAIN - ESTERASE - AKTIVITÄT/mg			MITTL. LEBER GEW.
	MIKROSOMEN - FRAKTION			MIKROSOMEN- FRAKTION			MIKROSOMEN - FRAKTION			MIKROSOMEN- FRAKTION			MIKROSOMEN - FRAKTION			MIKROSOMEN- FRAKTION			MIKROSOMEN- FRAKTION			g/ loo g Körper- gew.
	I	II		I	II		I	II		I	II		I	II		I	II		I	II		
KONTROLLE	6.9	8.2	15.1	2.6	3.4	6.o	o.4	o.4	o.4	3.o	4.2	7.2	o.4	o.5	o.5	2o.4	25.5	45.9	3.o	3.1	3.o	5.1
5 mg PHENOBARBITAL	6.9	7.8	14.7	2.6	3.5	6.1	o.4	o.5	o.4	2.8	4.4	7.2	o.4	o.6	o.5	16.8	26.2	43.o	2.4	3.4	2.9	5.2
25 mg PHENOBARBITAL	7.1	8.1	15.2	2.4	3.7	6.1	o.3	o.5	o.4	3.o	4.4	7.4	o.4	o.5	o.5	2o.9	27.2	48.1	2.9	3.4	3.2	4.9
1o mg TOLBUTAMID	7.1	8.2	15.3	2.5	3.3	5.8	o.4	o.4	o.4	3.2	4.2	7.4	o.5	o.5	o.5	18.5	24.o	42.5	2.6	2.9	2.8	4.9
5o mg TOLBUTAMID	6.6	9.o	15.6	2.3	4.2	6.5	o.4	o.5	o.4	2,6	5.5	8.1	o.4	o.6	o.5	17.8	33.1	5o.9	2.7	3.7	3.3	4.8

Sämtliche Pharmaka würden als Na- Salze in wässriger Lösung täglich i.p. injiziert. Die Bestimmung der mikrosomalen Bestandteile erfolgte 8 Tage nach der letzten von insgesamt 2o Injektionen. Mittleres Körpergewicht bei Versuchsbeginn : 31 $\pm$ 7 g, mittleres Körpergewicht bei der Dekapitation : 142 $\pm$ 3 g .

	MIKROSOMEN-PROTEIN mg / g			PHOSPHO - LIPOIDE mg / g			PHOSPHO - LIPOIDE /1 mg Prot.			CYTOCHROM b_5 m u mol./ g			CYTOCHROM b_5 /1 mg Prot.			PROCAIN - ESTERASE - AKTIVITÄT/g			PROCAIN - ESTERASE - AKTIVITÄT/mg			MITTL. LEBER-GEW.
	MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN - FRAKTION			MIKROSOMEN - FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			g / loo g Körper gew.
	I	II		I	II		I	II		I	II		I	II		I	II		I	II		
KONTROLLE	7.1	1o.8	17.9	3.3	4.5	7.8	o.5	o.4	o.4	3.8	5.3	9.1	o.5	o.5	o.5	2o.4	3o.7	51.1	2.9	2.9	2.9	5.1
2 mg PHENOBARBITAL	7.o	12.o	19.o	2.5	5.3	7.8	o.4	o.4	o.4	3,8	6.1	9.9	o.5	o.5	o.5	2o.4	38.4	58.8	2.9	3.2	3.1	4.8
2mg METHENOLONACET.	7.5	1o.8	18.3	3.8	5.o	8.8	o.5	o.5	o.5	4.4	4.7	9.1	o.6	o.4	o.5	25.7	33.o	58.7	3.4	3.1	3.2	5.2
2mg PHENOBARB. 2mg METHENOLON.	7.9	17.2	25.1	4.4	7.o	11.4	o.6	o.4	o.5	4.6	7.7	12.3	o.6	o.5	o.5	21.7	45.o	66.7	2.8	2.6	2.7	5.o
o.5 mg PREDNISOLON	4.6	19.2	23.8	2.4	8.5	1o.9	o.5	o.4	o.5	2.2	9.9	12.1	o.5	o.5	o.5	14.5	51.o	64.5	3.1	2.1	2.7	4.6
o.5mg PREDNISOL. 2 mg PHENOBARB.	7.8	16.5	24.3	3.9	7.3	11.2	o.5	o.4	o.5	4.4	7.5	11.9	o.6	o.5	o.5	3o.7	42.5	73.2	3.9	2.6	3.o	4.8

Phenobarbital wurde in wässriger Lösung, Prednisolon als Kristallsuspension , Methenolon in öliger Lösung täglich i.p. injiziert. Insgesamt 12 Injektionen . Körpergewichte s. Tab. 10

Tab. 7

	MIKROSOMEN-PROTEIN mg / g			PHOSPHO-LIPOIDE mg / g			PHOSPHO - LIPOIDE / 1 mg Prot			CYTOCHROM b_5 m u mol./g			CYTOCHROM b_5 / 1 mg Prot.			PROCAIN - ESTERASE - AKTIVITÄT/g			PROCAIN - ESTERASE - AKTIVITÄT/mg			MITTL. LEBER-GEW.
	MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			g / loo g Körper gew.
	I	II		I	II		I	II		I	II		I	II		I	II		I	II		
KONTROLLE	8.8	8.2	17.o	4.o	2.7	6.7	o.5	o.3	o.4	4.4	4.1	8.5	o,5	o.5	o.5	26.2	19.1	46.1	3.o	2.4	2.7	5.1
4 mg PHENOBARBITAL	6.8	11.3	18.1	2.4	4.1	6.5	o.4	o.4	o.4	3.5	6.3	9.8	o.5	o.6	o.5	29.3	35.8	65.1	4.3	3.3	3.6	5.1
2 mg METHENOLONACET.	6.4	11.o	17.4	3.5	3.7	7.2	o.6	o.3	o.4	3.3	5.8	9.1	o.5	o.5	o.5	28.1	27.6	55.7	4.4	2.5	3.2	5.3
4 mg PHENOBARB. 2 mg METHENOL.	6.3	10.6	16.9	2.2	5.4	7.6	o.4	o.5	o.5	2.4	6.3	8.7	o.4	o.6	o.5	22.8	46.o	68.8	3.6	4.3	4.1	4.7
2 mg PREDNISOLON	6.o	11.4	17.4	2.3	5.7	8.o	o.4	o.5	o.5	2.7	6.3	9.o	o.5	o.6	o.5	21.6	45.o	66.6	3.6	4.o	3.8	4.4
4 mg PHENOBARB. 2 mg PREDNISOL.	7.8	11.3	19.1	3.3	5.2	8.5	o.4	o.5	o.5	3,4	6.2	9.6	o.4	o.6	o.5	38.4	39.4	77.8	4.9	3.5	4.1	4.3

Sämtliche Pharmaka wurden in öliger Lösung alle 2 Tage i.p. injiziert. Insgesamt 12 Injektionen. Körpergewichte s. Tab.: 10 .

Tab. 8

	MIKROSOMEN-PROTEIN mg / g			PHOSPHO - LIPOIDE mg / g			PHOSPHO - LIPOIDE /1 mg Prot.			CYTOCHROM b_5 m u mol./g			CYTOCHROM b_5 / 1 mg Prot.			PROCAIN - ESTERASE - AKTIVITÄT/g			PROCAIN - ESTERASE - AKTIVITÄT/mg			MITTL. LEBER-GEW.
	MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN - FRAKTION			g/loog KÖRPER GEW.
	I	II		I	II		I	II		I	II		I	II		I	II		I	II		
KONTROLLE	5.7	1o.6	16.3	3.3	5.9	9.2	o.6	o.6	o.6	2.9	4.1	7.o	o.5	o.4	o.4	27.2	42.1	69.3	4.8	4.o	4.3	4.4
1o mg PHENOBARBITAL	6.2	12.2	18.4	3.3	7.o	1o.3	o.5	o.6	o.6	2.8	6.9	9.7	o.5	o.6	o.5	22.3	6o.o	82.3	3.6	4.9	4.5	4.9
2o mg TOLBUTAMID	4.8	14.8	19.6	2.7	7.5	1o.2	o.6	o.5	o.5	1.9	7.6	9.5	o.4	o.5	o.5	18.1	64.o	82.1	3.8	4.3	4.2	4.6
5o mg TOLBUTAMID	8.8	11.4	2o.2	4.5	5.7	1o.2	o.5	o.5	o.5	3.7	6.3	1o.o	o.4	o.5	o.5	35.3	42.7	78.o	4.o	3.8	3.9	4.4

Sämtliche Pharmaka wurden als Na- Salze in wässriger Lösung täglich i.p. injiziert.
Insgesamt 22 Injektionen.
Körpergewicht bei Versuchsbeginn : 36 $\pm$ 6 g, mittleres Körpergewicht bei der Dekapitation : 1o7 $\pm$ 4 g .

Tab. 9

	MIKROSOMEN-PROTEIN mg / g			PHOSPHO - LIPOIDE mg / g			PHOSPHO - LIPOIDE / 1 mg Prot.			CYTOCHROM b_5 m u mol./ g			CYTOCHROM b_5 /1 mg Prot.			PROCAIN - ESTERASE - AKTIVITÄT/g			PROCAIN - ESTERASE - AKTIVITÄT/mg			MITTL. LEBER-GEW.
	MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			MIKROSOMEN FRAKTION			MIKROSOMEN-FRAKTION			g/loo Körper gew.
	I	II		I	II		I	II		I	II		I	II		I	II		I	II		
KONTROLLE	4.o	9.5	13.5	2.o	4.6	6.6	o.5	o.5	o.5	2.o	4.9	6.9	o.5	o.5	o.5	18.2	47.5	65.7	4.6	5.o	4.9	4.9
2 mg METHENOLONACET.	6.5	1o.8	17.3	2.3	4.9	7.2	o.4	o.5	o.4	2.o	5.6	7.6	o.3	o.5	o.4	26.o	51.o	77.o	4.o	4.7	4.5	4.9
4 mg METHENOLONACET.	4.4	12.3	16.7	2.3	5.9	8.2	o.5	o.5	o.5	1.4	7.1	8.5	o.3	o.6	o.5	17.8	52.4	7o.2	4.o	4.3	4,2	5.o
4 mg PHENOBARB. 2 mg METHENOL.	5.o	12.2	17.2	2.1	5.9	8.o	o.4	o.5	o.5	1.4	6.6	8.o	o.3	o.5	o.5	18.6	59.o	77.6	3.7	4.8	4.5	5.3
5o mg PHENOBARBITAL	7.2	12.o	19.2	2.3	6.1	8.4	o.3	o.5	o.4	3.2	7.5	1o.7	o.4	o.6	o.6	32.2	48.5	8o.7	4.5	4.o	4.2	5.3

Phenobarbital und Tolbutamid wurden als Na- Salze in wässriger Lösung, Methenolon-acetat als Kristallsuspension täglich i.p. injiziert. Insgesamt 21 Injektionen.

Körpergewichte s. Tab. : 10 .

KÖRPERGEWICHTE zu Tabelle : 6

Mittleres Körpergewicht bei Versuchsbeginn : 26 ± 4 g .Bei der Dekapitation :

	KONTROLLE	n	PHENOBARBIT. 2 mg	n	METHENOLON. 2 mg	n	2 mg PHENOB. 2 mg METHEN.	n	PREDNISOLON o.5 mg	n	2 mg PHENOB. o.5" PREDN.	n
KÖRPERGEWICHT	5o ± 8	29	56 ± 8	15	59 ± 4	14	64 ± 8	14	57 ± 5	13	56 ± 7	13
P			o.o5		o.ol		o.ol		o.ol		o.o5	

KÖRPERGEWICHTE zu Tabelle : 7

Mittleres Körpergewicht bei Versuchsbeginn : 34 ± 5 g .

Körpergewichte bei der Dekapitation :

	KONTROLLE	n	PHENOBARBITAL 4 mg	n	METHENOLON. 2 mg	n	4 mg PHENOB. 2 mg METHEN.	n	PREDNISOLON 2 mg	n	2 mg PREDNIS. 4 mg PHENOB.	n
KÖRPERGEWICHT	92 ± 2o	13	93 ± 11	11	84 ± 15	9	lol ± 3	14	93 ± 2o	lo	loo ± 11	17
P			l.o		l.o		o.5		l.o		o.5	

KÖRPERGEWICHTE zu Tabelle : 9

Mittleres Körpergewicht bei Versuchsbeginn : 39 ± 5 g .

Körpergewicht bei der Dekapitation :

	KONTROLLE	n	METHENOLON. 2 mg	n	METHENOLON. 4 mg	n	4 mg PHENOB. 2 mg METHEN.	n	2o mg TOLBUT. 2 mg METHEN.	n	PHENOBARBIT. 5o mg	n
KÖRPERGEWICHT	lo6 ± 11	15	116 ± 15	15	113 ± lo	14	llo ± 12	15	lo9 ± lo	14	lo2 ± 14	8
P			o.l		o.l		o.5		o.5		l.o	

Tab. 11

	KONTROLLE	n	8o mg TOLBUTAMID	n	4 mg METHENOLON-ACETAT	n
KÖRPERGEWICHT BEI VERSUCHSBEGINN	1o6 ± 16 g	19	1o5 ± 17 g	19	11o ± 13	17
KÖRPERGEWICHT BEI DER DEKAPITATION	225 ± 23 g	16	244 ± 31 g	17	24o ± 29	14
LEVATOR-ANI-GEWICHT BEI DER DEKAPITATION	17 ± 1 mg/1oog	15	16 ± 1 mg/1oo g	17	54 ± 5 mg /1oo g	12

Tolbutamid wurde in wässriger Lösung, Methenolon als Kristallsuspension i.p. alle 2 Tage appliziert. Insgesamt 30 Injektionen. Die Kontrollen erhielten das Lösungsmittel.

Abb. 1

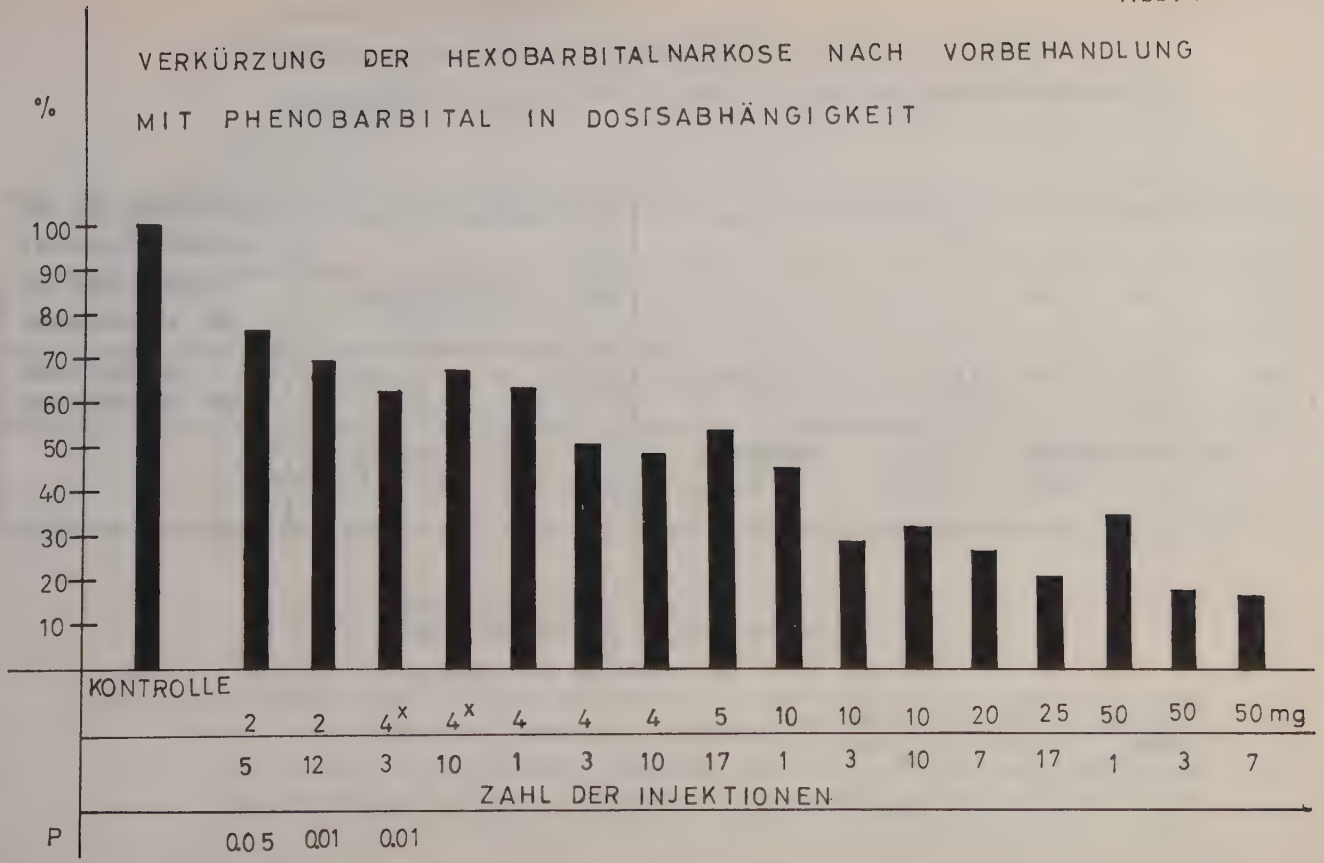

VERKÜRZUNG DER HEXOBARBITALNARKOSE NACH VORBEHANDLUNG
MIT PHENOBARBITAL IN DOSISABHÄNGIGKEIT
%
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
KONTROLLE
2 2 4x 4x 4 4 4 5 10 10 10 20 25 50 50 50 mg
5 12 3 10 1 3 10 17 1 3 10 7 17 1 3 7
ZAHL DER INJEKTIONEN
P
0.05 0.01 0.01

Abb. 2

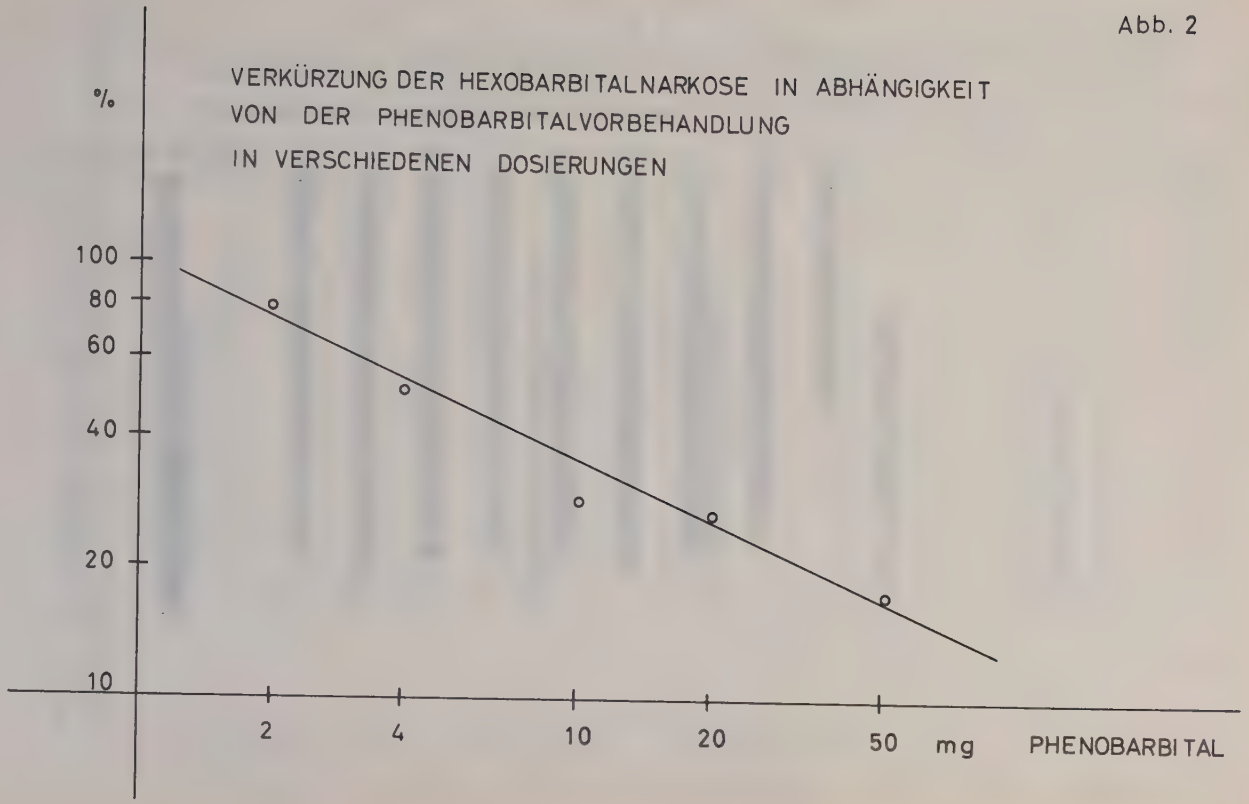

VERKÜRZUNG DER HEXOBARBITALNARKOSE IN ABHÄNGIGKEIT
VON DER PHENOBARBITALVORBEHANDLUNG
IN VERSCHIEDENEN DOSIERUNGEN
%
100
80
60
40
20
10
2
4
10
20
50
mg
PHENOBARBITAL

Abb. 3

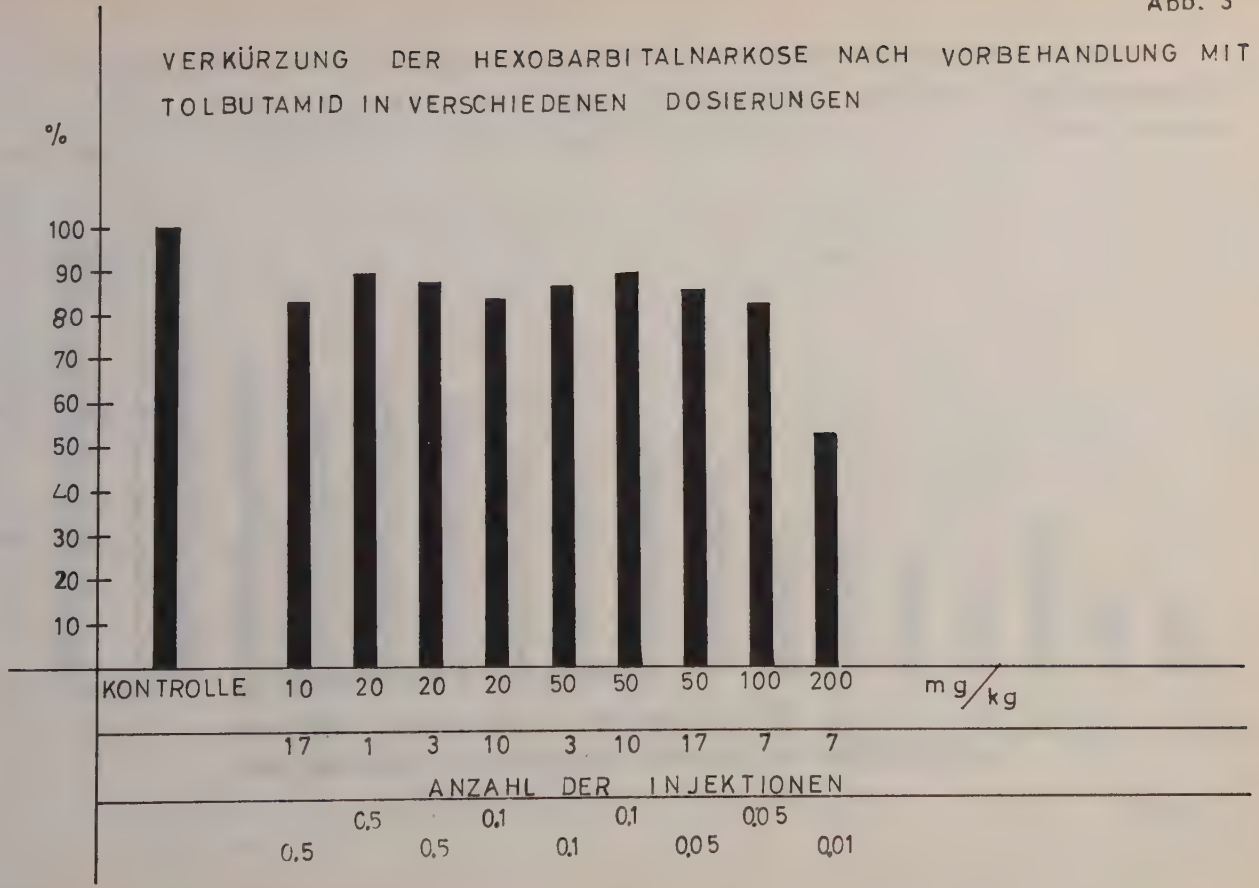
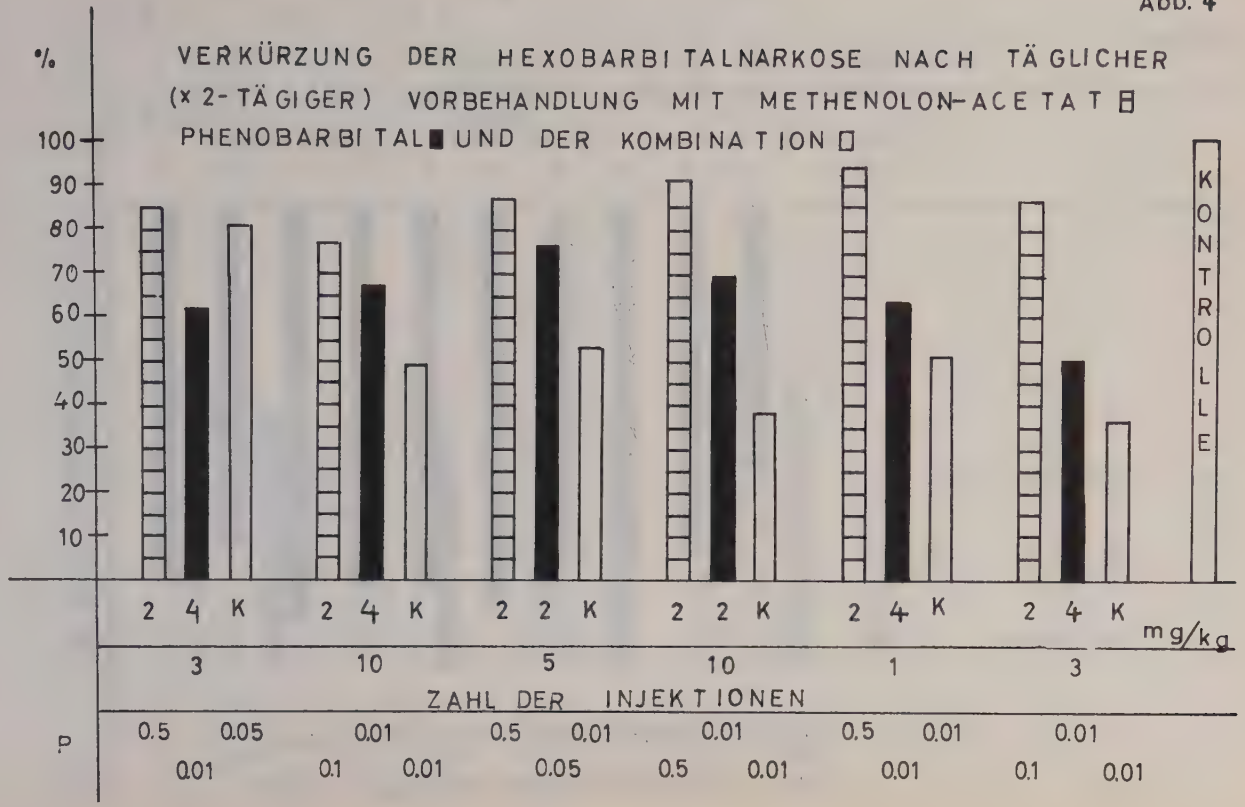

VERKÜRZUNG DER HEXOBARBITALNARKOSE NACH VORBEHANDLUNG MIT TOLBUTAMID IN VERSCHIEDENEN DOSIERUNGEN
%
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
KONTROLLE
10
20
20
20
50
50
50
100
200
mg/kg
17
1
3
10
3
10
17
7
7
ANZAHL DER INJEKTIONEN
0.5
0.5
0.1
0.1
0.5
0.1
0.05
0.05
0.01

Abb. 4


%
VERKÜRZUNG DER HEXOBARBITALNARKOSE NACH TÄGLICHER (x 2-TÄGIGER) VORBEHANDLUNG MIT METHENOLON-ACETAT ⊟ PHENOBARBITAL ■ UND DER KOMBINATION □
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
KONTROLLE
2 4 K 2 4 K 2 2 K 2 2 K 2 4 K 2 4 K
mg/kg
3 10 5 10 1 3
ZAHL DER INJEKTIONEN
P
0.5 0.05 0.01 0.5 0.01 0.01 0.5 0.01 0.01
0.01 0.1 0.01 0.05 0.5 0.01 0.01 0.1 0.01

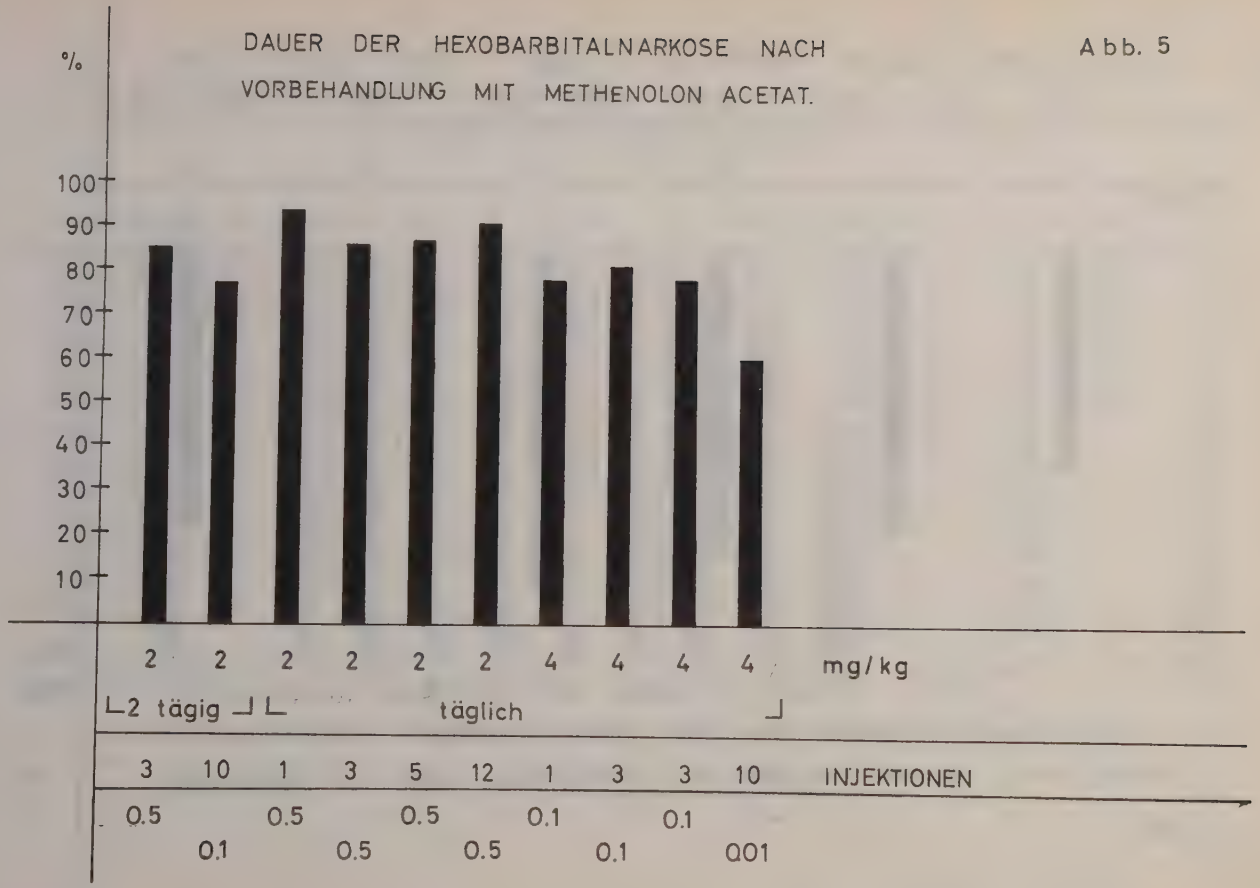

DAUER DER HEXOBARBITALNARKOSE NACH
VORBEHANDLUNG MIT METHENOLON ACETAT.
Abb. 5
%
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
2 2 2 2 2 2 4 4 4 4 mg/kg
2 tägig
täglich
3 10 1 3 5 12 1 3 3 10 INJEKTIONEN
0.5 0.5 0.5 0.1 0.1
0.1 0.5 0.5 0.1 001

Abb. 6

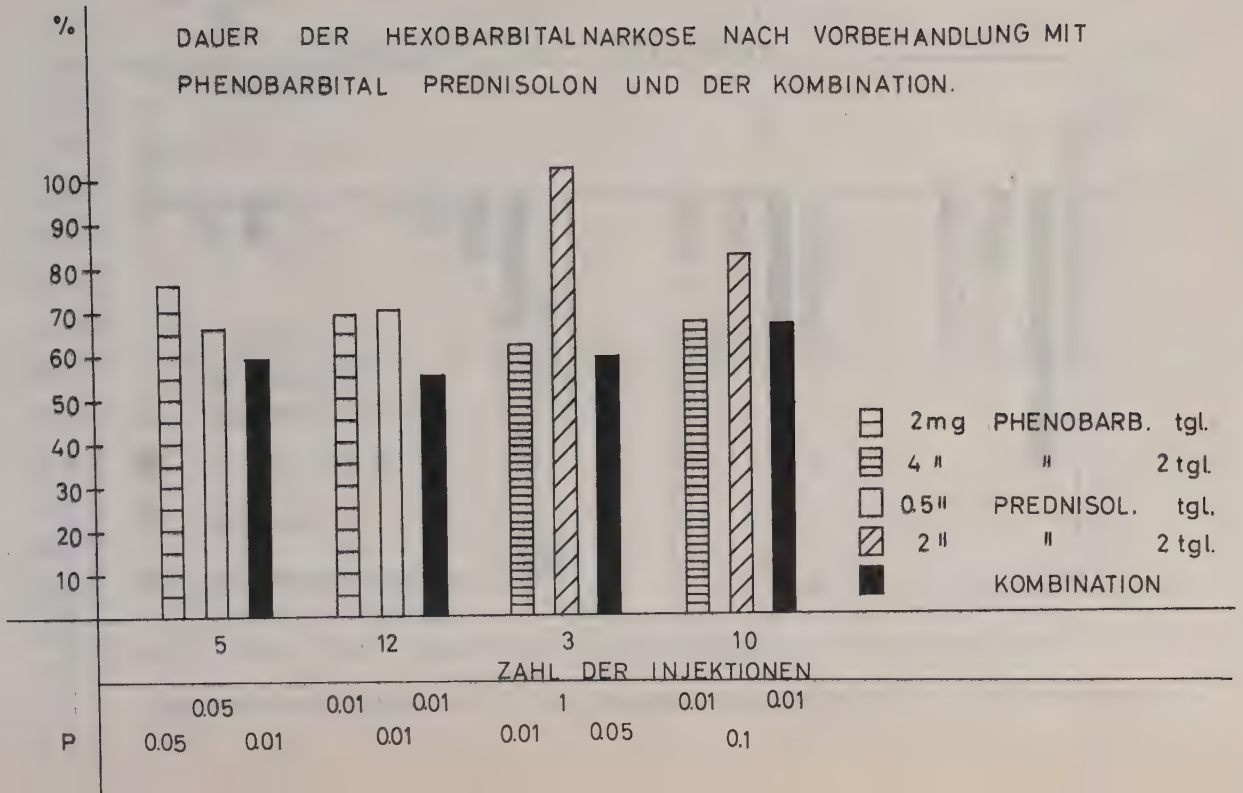

%
DAUER DER HEXOBARBITALNARKOSE NACH VORBEHANDLUNG MIT
PHENOBARBITAL PREDNISOLON UND DER KOMBINATION.
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
2 mg PHENOBARB. tgl.
4 " " 2 tgl.
0.5 " PREDNISOL. tgl.
2 " " 2 tgl.
KOMBINATION
5
12
3
10
ZAHL DER INJEKTIONEN
P
0.05
0.01
0.05
0.01
0.01
0.01
1
0.01
0.05
0.01
0.1

Abb. 7

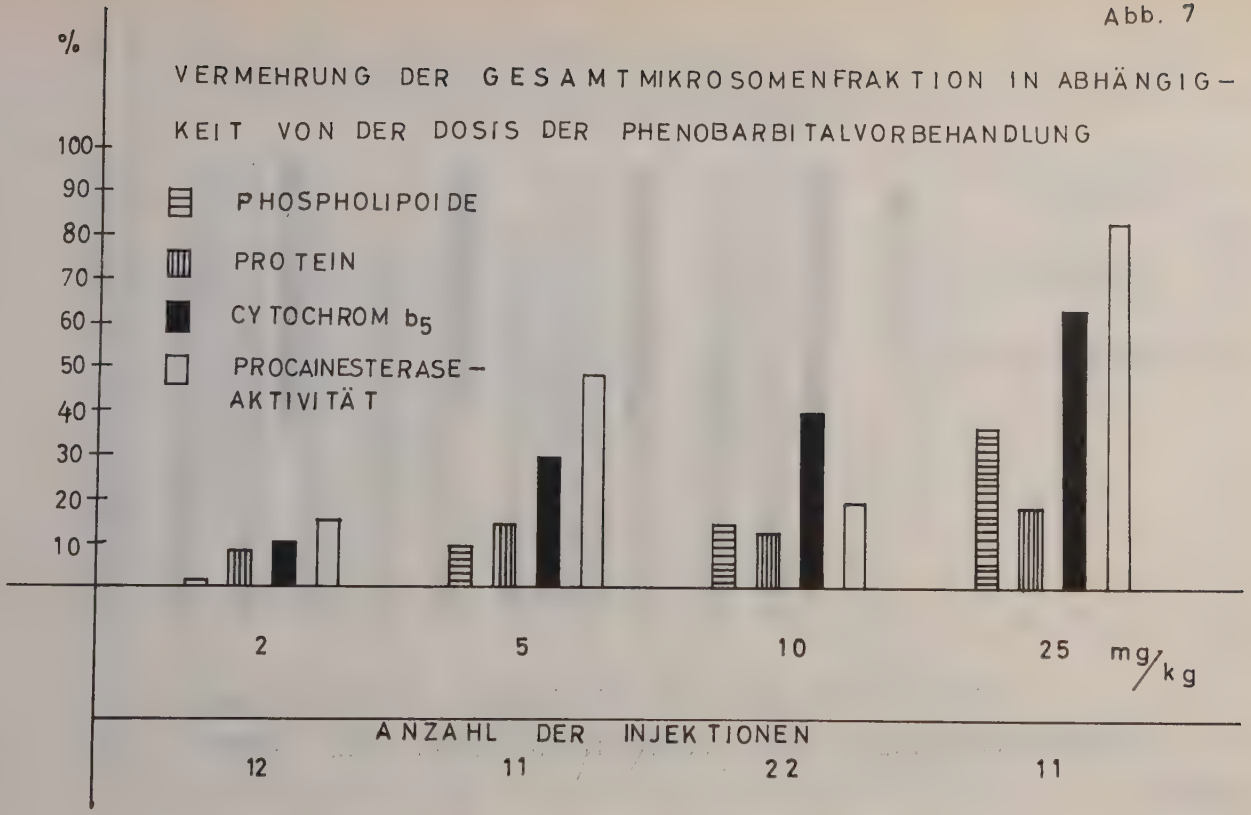
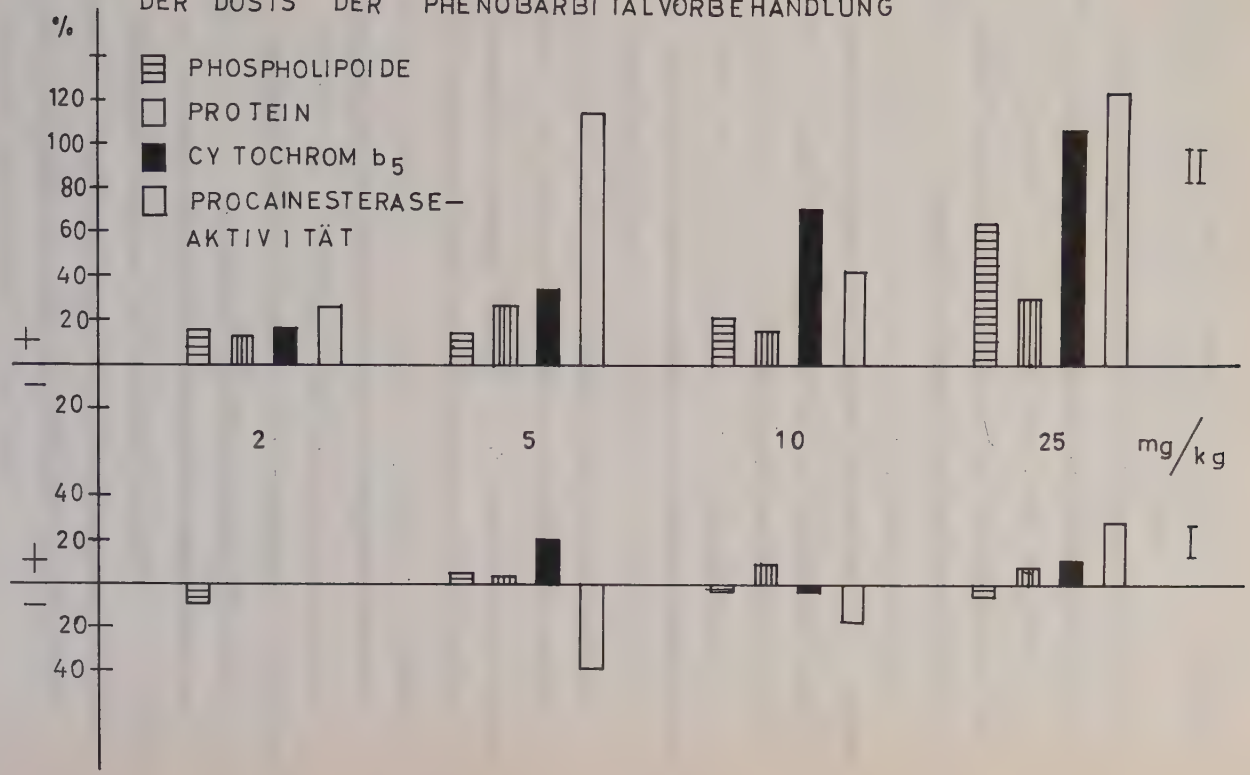

%
VERMEHRUNG DER GESAMTMIKROSOMENFRAKTION IN ABHÄNGIGKEIT VON DER DOSIS DER PHENOBARBITALVORBEHANDLUNG
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
PHOSPHOLIPOIDE
PROTEIN
CYTOCHROM b_5
PROCAINESTERASE-AKTIVITÄT
2
5
10
25
mg/kg
ANZAHL DER INJEKTIONEN
12
11
22
11

Abb. 8

VERMEHRUNG DER I. UND II. MIKROSOMENFRAKTION IN ABHÄNGIGKEIT VON DER DOSIS DER PHENOBARBITALVORBEHANDLUNG



Literatur

Booth, J. and Gillette, J.R. : The effect of anabolic steroids on drug metabolism by microsomal enzymes in rat liver. J. Pharm. 137, 374 (1962) .

Brodie, B.B., Gillette, J.R. and LaDu, B.N. : Enzymatic metabolism of drugs and other foreign compounds. Ann.Rev. Biochem. 27, 427 (1958) .

Conney, A. H., Davidson, C., Gastel, R. and Burns, J.J. : Adaptive increase in drug metabolizing enzymes induced by phenobarbital, and other drugs. J. Pharm. Exp.Ther. 130, 1 (1960).

Conney, A.H. and Klutch, A. : Increased activity of androgen hydroxylases in liver microsomes of rats pretreated with phenobarbital and other drugs. J. Biol. Chem. 238, 5 (1963) .

Conney, A. H. and Burns, J. J. : Induced synthesis of oxydative enzymes in liver microsomes by polycyclic hydrocarbons and drugs. Symposium on regulation of enzyme activity and synthesis in normal neoplastic liver. 189 (1963) .

Conney, A.H., Schneidmann, K., Jacobson, M. and Kuntzmann, R. : Drug induced changes in steroid metabolism. Ann. N.Y. Acad. of Sciences , Vol. 123, 98 (1965) .

Dallner , G. : Studies on structural and enzymatic organisation of the membranous elements of liver microsomes. Acta Pathol. et Microbiol. Scandinavica, Suppl. 166 (1963).

Eisenberg, E. and Gilbert S. Gordan : The levator ani muscle of the rats as an index of steroidal hormones.
J. Pharm. Exp. Ther. 99, 38 (1950).

Fouts , J. R. : The metabolism of drugs by subfractions of hepatic microsomes.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 3, 373 (1961) .

Garfinkel, D. : Isolation and properties of cytochrom b_5 from pig liver.
Arch. Biochem. Biophys. 71, 111 (1957) .

Gelboin, H. V. and Sokoloff, L. : Effects of 3-methylcholanthrene and phenobarbital on amnino-acid incorporation into protein.
Science 134, 611 (1961) .

Grams, W. : Der Einfluß von Steroidhormonen auf den Hexobarbitalabbau bei der Ratte.
Inaugural- Dissertation , Berlin, 1962 .

Junkmann, K. und Suchowsky, G. : Untersuchung anabol wirksamer Steroide .
Arzneimittelforschung 12, 214 (1962) .

Kato, R. , Vasanelli, P., Frontino, G., Chiesara, E. : Variation in the activity of liver microsomal drug metabolizing enzymes in rats in relation to the age.
Biochem. Pharmacol. 13, 1037 (1964) .

Kato, R., Loeb, L. Gelboin, H. V. : Microsome-specific stimulation by phenobarbital of amino-acid incorporation in vivo.
Biochem. Pharmacol. 14, 1164 (1965) .

Krause, W. : Die Steigerung der Aktivität oxydierender Enzyme in den Lebermikrosomen durch Arzneimittel.
Inaugural-Dissertation, Berlin, 1962.

Magour, S. : Die Induktion reduzierender mikrosomaler Leberenzyme durch Phenobarbital.
Inaugural-Dissertation, Berlin, 1964 .

Nimni, M. E. and Geiger, E. : Non-suitability of levator ani method as an index of anabolic effects of steroids .
Proc.Soc. Exper. Biol. Med. 94, 606 (1957) .

Orrenius, S., Ericsson, J. L. E. and Ernster, L. : Phenobarbital induced synthesis of the microsomal metabolizing enzyme system and its relationship to the proliferation of endoplasmatic membranes.
J. Cell. Biol. 25, 627 (1965) .

Palade, G. E. ,Siekevitz, P. : Liver microsomes.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 2, 171 (1956) .

Price, J. M. , Miller, E.C. , Miller, J.A. : The intracellular distribution of protein , nucleic acids , riboflavin and protein bound amninoaco-dye in the liver of rats fed p- dimethylaminoazobenzene.
J. Biol. Chem. 173, 345 (1948) .

Quinn, G. P. , Axelrod, J. and Brodie, B. B. : Spezies , strain and sex differences in metabolism of hexobarbitone, amidopyrine, antipyrine, aniline.
Biochem. Pharmac. 1, 152 (1959) .

Remmer , H. : Die Verstärkung der Abbaugeschwindigkeit von Evipan durch Glucocorticoide.
Arch. Exp. Path. Pharm. 233, 184 (1958) .

Remmer, H. : Die Beschleunigung von enzymatischen Oxydationen in den Lebermikrosomen unter dem Einfluß von Barbituraten.
Arch. Exp. Path. Pharm. 236, 7 (1959) .

Remmer, H. : Drugs as activators of drug enzymes.

Proceed. 1. Intern. Pharm. Meet. 6, 235 (1962) .

Remmer, H. and Merker, H. J. : Drug induced changes in the liver endoplasmatic reticulum: Association with drug metabolizing enzymes.

Science 142, 1657 (1963) .

Remmer, H. und Merker, H.J. : Enzyminduktion und Vermehrung von endoplasmatischem Retikulum in der Leberzelle während der Behandlung mit Phenobarbital.

Klin. Wochenschr. 41, 276 (1963) .

Remmer, H. , Siegert,M., Merker, H.J. : Vermehrung arzneimittelabbauender Enzyme durch Tolbutamid.

Arch. Exp. Path. Pharm. 249, 71 (1964) .

Remmer, H. : Detoxification of drugs in the liver.

Progress in Liver Diseases, Vol. 2 , 116 (1965) .

Remmer, H. and Merker, H. J. : Effect of drugs on the formation of smooth endoplasmatic reticulum and drug metabolizing enzymes.

Ann. N. Y. Acad. of Sciences Vol 123, 79 (1965) .

Remmer, H. : Leberfunktionsstörungen durch anabol und gestagen wirkende Steroide.

Nauheimer Fortbildungs- Lehrgänge Bd. 30, 118 (1965) .

Schneider, W. C. : Phosphorus compounds in animal tissues.

J. Biol. Chem. 161, 293 (1945) .

Herrn Prof. Dr. med. Hans Herken, dem Direktor des Pharmakologischen Institutes der Freien Universität Berlin, verdanke ich, daß ich in diesem Hause die dargestellten Untersuchungen durchführen durfte.

Herrn Prof. Dr. med. Herbert Remmer, dem Direktor des Toxikologischen Institutes der Eberhard-Karls-Universität Tübingen, möchte ich für die Überlassung des Themas dieser Arbeit und für seinen stets hilfsbereiten Rat meinen Dank aussprechen.

Lebenslauf

Am 28. Januar 1939 wurde ich, Rüdiger Reichert, als Sohn des Architekten Günter Reichert und seiner Ehefrau Jacoba Reichert, geb. Schmidt, in Schwerin geboren.

Nach drei Grundschuljahren in Siegen / Westfalen besuchte ich das dortige Städt. Gymnasium , an dem ich am 3. März 1959 das Abitur bestand.

Die vorklinischen Semester studierte ich an der Johannes-Gutenberg-Universität zu Mainz. Anschließend ging ich für vier Semester an die Freie Universität zu Berlin. Dort begann ich im Frühjahr 1963 mit den Untersuchungen zu der vorliegenden Arbeit.

Die ärztliche Prüfung legte ich am 29. Januar 1965 an der Johannes-Gutenberg-Universität zu Mainz ab.

Das erste Jahr meiner Medizinalassistentenzeit war ich an den Kliniken der Freien Universität Berlin und im März 1966 im Toxikologischen Institut der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen angestellt.